



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Atropins effekt på tarmmotilitet hos häst

Effect of atropine on intestinal motility in the horse

Annika Källse

Uppsala

2019

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

Atropins effekt på tarmmotilitet hos häst

Effect of atropine on intestinal motility in the horse

Annika Källse

Handledare: Carl Ekstrand, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Lena Ström, institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Marie Rhodin, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Atropin, häst, ileus, transkutant ultraljud

Key words: Atropine, equine, ileus, transcutaneous ultrasonography

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Atropin är en viktig del i behandlingen av ögonsjukdomar hos häst. Genom att minska spasmen i ciliarmuskeln och dilatera pupillen minskar risken för synekier i ögat. Atropin blockerar acetylkolins effekt på muskarinreceptorer och därmed parasympatikus. Förutom effekt på ögat har atropin även effekt på flera organsystem i kroppen. Det är väl känt sedan tidigare att atropin vid frekvent topikal administrering och höga doser intravenöst kan vara en bidragande faktor till ileus och kolik, ett potentiellt livshotande tillstånd hos häst. För att utveckla säkra behandlingsrekommendationer behöver dos-effekt sambandet studeras. Effekterna efter en intravenös infusion av atropin i dosen 0,009 mg/kg har utvärderats genom att övervaka hästarnas tarmmotilitet genom auskultation och transkutant ultraljud. Auskultation av bukens fyra kvadranter är en väl använd diagnostisk metod där observatören graderar tarmljuden, minskade tarmljud tyder på en funktionsnedsättning av tarmen. Vid dosen 0,009 mg/kg observeras en funktionsminskning i tarm hos några av hästarna. Den skattade sannolikhetsfördelningen indikerar att 4,5 % av alla hästar på populationsnivå skulle drabbas av funktionsnedsättning vid given dos (0,009 mg/kg). Det indikerar att effekten på tarm är liten vid denna dos. Ökad stickprovstorlek i studien skulle ge ett bättre underlag för säkrare skattningar. Förutom auskultation monitorerades tarmen även genom transkutant ultraljud. Tekniken upplevdes som svår att använda då det krävs en subjektiv bedömning av kontraktionerna och tarmsegment kan förflyttas ur bild under mätperioderna och auskultation visades vara en känsligare metod för att utvärdera tarmmotilitet på häst.

SUMMARY

Atropine is an important part of the treatment of uveitis in horses. It reduces the spasm in the ciliary muscle and dilate pupils, thereby the risk of synechia in the eye is reduced. Besides local effects on the eye, atropine has systemic effects on multiple organs in the body. It is well known that atropine at frequent topical administrations and high doses intravenously may be a contributing factor to ileus and colic, a potentially life-threatening condition in horses. To increase the scientific base for dose recommendations with lowest possible risk for unwanted effects, the dose-effect relationship needs to be studied. The effects of an intravenous infusion of atropine at the dose of 0,009 mg/kg have been evaluated by monitoring the intestinal motility of the horses, by means of auscultation and transcutaneous ultrasound. At this dose, the observed values of bowel motility from the placebo group and the treatment group largely overlap. The fraction of the atropine-treated horses with significant decrease in bowel motility, was estimated to approximately 4,5% of the population level. This indicates that the effect of atropine on bowel motility is low at this dose (0,009 mg/kg). Increasing the sample size would provide safer estimates. Transcutaneous ultrasound as a method to monitor the intestinal motility was proved difficult to use in this study, due to the subjectivity in assessment of contractions. Auscultation showed to be the most sensitive method to evaluate intestinal motility in the horse.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Tarmens uppbyggnad	2
Reglering av gastrointestinalkanalerna	2
Myoelektrisk aktivitet i tarmen	4
Olika typer av kontraktioner i tarmen	4
<i>Kontraktion i tunntarm</i>	5
<i>Kontraktioner i cecum</i>	5
<i>Kontraktioner i colon</i>	5
Muskarinreceptorer	6
Muskarinantagonister	7
<i>Atropin</i>	8
<i>Hyoscinbutylbromid</i>	9
Ileus	9
Metoder för att bedöma tarmmotilitet	10
MATERIAL OCH METODER	11
Studiedesign	11
Hästar	11
Behandlingsprotokoll	12
Undersökningsprotokoll	12
<i>Auskultation</i>	12
<i>Ultraljud</i>	12
<i>Elektrointestinografi (EIG)</i>	13
<i>Elektrokardiografi (EKG)</i>	13
<i>Pupillreflex och vertikal pupilldiameter</i>	13
<i>Tecken på kolik</i>	14
<i>Statistisk analys</i>	14
<i>Simuleringar av plasmakoncentration-tidsförloppet av atropin</i>	15
RESULTAT	15
Auskultation	15
Ultraljud (UL)	16
Tecken på kolik	16
Elektrokardiografi (EKG)	17
Pupillreflex och vertikal pupilldiameter	17
DISKUSSION	18

Dos-respons förhållande avseende atropin och tarmmotilitet	18
Auskultation av tarmmotilitet	21
Kontraktionsfrekvens i tarm, mätt med ultraljud	21
Atropins effekt på hjärtfrekvensen	22
Atropins effekt på pupillen	22
Vilka faktorer kan vara bakomliggande vid utvecklande av kolik?	23
KONKLUSION	24
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	25
Atropins effekt på tarm	25
REFERENSER	27
<i>Bilaga 1. Ackumulerad funktionsminskning under åtta timmar vid auskultation av bukens fyra kvadranter.</i>	
<i>Bilaga 2. Transkutant ultraljud. Antal kontraktioner per 3 minuter i cecum och höger dorsala colon.</i>	

INLEDNING

Atropin är vanligt förekommande och mycket viktig del i behandling av ögonskador och uveit hos häst. Atropin administreras då som topikala ögondroppar och ger analgesi genom att lindra spasmen i ciliarmuskeln och dilaterar pupillen, vilket minskar risken för synekier i ögat. Atropin stabiliserar även blod-kammarvätskebarriären och minskar läckaget av inflammatoriska celler och proteiner till främre ögonkammaren (Brooks, 2002). Det är sedan länge känt att det finns en risk för att hästar utvecklar kolik vid intensiv atropinbehandling av ögonskador (Beatson, 1982; Brooks, 2002; Williams *et al.*, 2000). Atropins systemiska effekter är dosberoende (Brunton *et al.*, 2011) och vilka doser eller plasmakoncentrationer av atropin som ger en ökad risk för att hästar ska drabbas av symptom på buksmärt, är inte helt klarlagd i litteraturen.

Tarmens motorik är en komplex interaktion mellan det enterala nervsystemet, tarmväggen och innehållet i tarmen (Sjaastad, 2004). Atropin verkar på muskarinreceptorer och kan vid högre doser konkurrera ut acetylkolin och inhibera tarmmotoriken, likväl som skapa en rad systemeffekter som bland annat ökad hjärtfrekvens och dilatering av pupillens ciliarmuskel (Brunton *et al.*, 2011; Rang & Dale, 2011). Atropinbehandling är inte den enda riskfaktorn för att hästar med ögonskador skall drabbas av kolik, utan det är tänkbart att flera andra faktorer kan vara delaktiga i patofysiologin bakom hypomotilitet i tarm, så kallad ileus (Patipa *et al.*, 2012; Scherrer *et al.*, 2016).

Auskultation är en vanligt förekommande metod för att gradera tarmens funktion och har tidigare använts i flertalet studier avseende atropin (Dalin, 2014; Domberg, 2014; Johansson, 2016; Ducharme & Fubini, Wehrman *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2000). Andra icke-invasiva metoder för att övervaka tarmens funktion är transkutant ultraljud och elektointestinografi.

Sammantaget i litteraturen finns belagt att frekventa topikala givor samt höga intravenöst administrerade doser av atropin kan framkalla ileus och kolik hos häst (Adams *et al.*, 1984, Ducharme & Fubini, 1983; Williams *et al.*, 2000). Dos-respons förhållandet mellan atropin och nedsatt tarmmotilitet är som tidigare nämnts ännu inte klarlagd och det är viktigt med fortsatt forskning för att utarbeta säkra behandlingsprotokoll. Det är även viktigt att belysa vilka andra faktorer som kan vara delaktiga i den högre kolikfrekvensen hos oftalmologiska patienter jämfört med andra patienter. Litteraturstudien i detta examensarbete har inriktats på att redogöra för tarmens normala motorik och innervering, antikolinergiska läkemedel och dess effekter samt vilka faktorer som skulle kunna vara bidragande till att hästar utvecklar ileus. Syftet med den experimentella delen av examensarbetet är att ta reda på om, och när tarmmotiliteten minskar efter en intravenös infusion av atropin samt jämföra ultraljud och auskultation som diagnostiska metoder vid funktionsminskning av tarm.

LITTERATURÖVERSIKT

Tarmens uppbyggnad

Tarmväggen är uppbyggd på samma sätt hos alla domesticerade djur med fyra olika typer av lager som bildar tarmens vägg; mucosa, submucosa, muscularis samt serosa (Sjaastad *et al.*, 2004).

Mucosa som täcker tarmens lumen är veckad för att öka absorptionsytan. Den största veckningen ses i tunntarmen där absorptionen är som störst (Sjaastad *et al.*, 2004). *Mucosa* skapar en selektiv barriär vilken skyddar mot patogener i tarmlumen och möjliggör absorption av näring, elektrolyter och vätska (Zachary & McGavin, 2011). Under det kubiska epitelet i *mucosa*s yta finns ett lager bestående av bindväv, glatt muskulatur, blod- och lymfkärl, nerver samt lymfatisk vävnad. Muskellagret, även kallat *mucosa muscularis*, förändrar formen på *mucosa* vid kontraktion och skapar på så sätt möjlighet för ytterligare absorption (Sjaastad *et al.*, 2004).

Submucosa består av ett tjockare skikt med bindväv samt blod- och lymfkärl (Sjaastad, 2004). I *submucosa* finns även plexus *submucosus*, även kallat Meissner's plexa, som är mest utvecklat i tunntarmen och huvudsakligen kontrollerar sekretion och reglering av blodflöde i *mucosa* (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004; Chiocchetti *et al.*, 2009; Zachary & McGavin, 2011).

Muscularis består av två lager med glatt muskulatur. Det innersta lagret är cirkulärt och vid kontraktion minskar lumens diameter. När det yttre longitudinella muskellagret kontraherar kortas ett avsnitt av tarmen samtidigt som lumen blir större (Sjaastad, 2004). Mellan dessa två muskellager finns plexus *myentericus*, även kallat Auerbachs plexa (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004; Smith, 2014; Koenig & Cote, 2006; Schusser & White, 1997; Zachary & McGavin, 2011). Det *myenteriska* plexats nerver reglerar huvudsakligen motorneuronen i de två muskellagren, men har även ett stort antal synapser med nerver i plexus *submucosus* och sympatiska ganglier (Sjaastad *et al.*, 2004; Chiocchetti *et al.*, 2009; Schusser & White, 1997).

Serosa är det yttersta lagret i tarmen sett från lumen och består av ett tunt bindvävslager som täcks av ett lager kubiskt epitel som samtidigt bildar det vicerala bladet av peritoneum (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004).

Reglering av gastrointestinalkanalen

Aktiviteten i gastrointestinalkanalen styrs huvudsakligen av det enteriska nervsystemet, men kan även påverkas av parasympatiska och sympatiska nervsystemet (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004; Smith, 2014; Brunton *et al.*, 2011; Chiocchetti *et al.*, 2009; Malone *et al.*, 1999; Zachary & McGavin, 2011). Enteriska nervsystemet är en del av det autonoma nervsystemet och består av ganglier i tarmväggen längs hela gastrointestinalkanalen. Dessa ganglier styr motilitet, exokrin och endokrin sekretion samt blodcirkulation i gastrointestinalkanalen. Neuronen är organiserade i två plexus, plexus *myentericus* reglerar tarmens kontraktioner och plexus *submucosus* reglerar *mucosa*s funktion vilket inkluderar sekretion och reglering av blodflöde i *mucosa* (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004; Brunton *et al.*, 2011; Chiocchetti *et al.*, 2009; Koenig & Cote, 2006; Schusser & White, 1997;

Zachary & McGavin, 2011). Det myenteriska plexat har en excitatorisk effekt på glatt muskulatur och stimulerar tarmmotilitet, men det finns även neuron som har en inhibitorisk effekt på glatt muskulatur i sfinkters längs intestinalkanalerna (Guyton, 2000). Nerverna i dessa ganglier är organiserade i korta och långa reflexbågar (Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004; Smith, 2014; Chiocchetti *et al.*, 2009; Koenig & Cote, 2006).

Korta reflexbågar möjliggör för enteriska nervsystemet att reglera tarmen på egen hand utan signaler från det perifera eller centrala nervsystemet. Regleringen sker helt och hållet inom tarmväggen där sensoriska och motoriska nerverna kan påverka den glatta muskulaturen och de sekretoriska cellerna (Chiocchetti *et al.*, 2009; Smith, 2014; Sjaastad *et al.*, 2004). De sensoriska cellerna reagerar på stimuli från till exempel sträckreceptorer eller kemiska och fysikaliska förändringar i ingestan. Den enklaste korta reflexbågen består endast av en sensorisk cell och motornerv, men det finns även mer komplicerade reflexbågar som inkluderar ett eller flera interneuron (Sjaastad *et al.*, 2004).

Långa reflexbågar involverar det centrala nervsystemet genom att parasympatiska och sympatiska nerver kopplar ihop det centrala nervsystemet med det enteriska nervsystemet. Genom de långa reflexbågarna kan det autonoma nervsystemet utöva effekt på sekretion och kontraktion i digestionssystemet. Sinnena som syn, smak och lukt kan till viss del påverka aktiviteten i digestionssystemet (Sjaastad *et al.*, 2004; Koenig & Cote, 2006). Hos människa styrs tarmkontraktionernas intensitet och frekvens av parasympatikos genom *nervus vagus* och *nervus pelvic splanchnic* samt det sympatiska nervsystemet via nerver och hormoner (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Koenig & Cote, 2006).

Det enteriska nervsystemet stimulerar den motoriska och sekretoriska aktiviteten i gastrointestinalkanalerna direkt genom neurotransmittorer där acetylkolin är den huvudsakliga parasympatiska signalsubstansen hos alla arter och främjar framförallt kontraktion genom att verka på muskarinreceptorer typ 2 (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004; Smith, 2014; Rang & Dale, 2011; Koenig & Cote, 2006). Frisättningen av acetylkolin från nervändar kan hämmas av noradrenalin, vilket innebär att sympatikos inhiberar aktiviteten i gastrointestinalkanalerna och ökar kontraktiliteten i sfinkters (Sjaastad, 2004). I cirkulär glatt muskulatur med hög muskeltonus kan acetylkolin skapa relaxation, vilket är viktigt för att sfinkters ska kunna låta ingesta passera i gastrointestinalkanalerna (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004; Ehlert *et al.*, 1997; Koenig & Cote, 2006; Malone *et al.*, 1999). För att skapa relaxation i dessa vävnader tros acetylkolin framkalla frisättning av intracellulära mediatorer varav kväveoxid har föreslagits vara en (Malone *et al.*, 1999).

Indirekt påverkar det enteriska nervsystemet tarmen genom pacemakerceller. Interstitiella kajalceller är en typ av pacemakerceller kopplade till glatt muskulatur. Dessa styr den naturliga rytmen av elektrisk aktivitet genom att de initierar långsamma vågor i gastrointestinalkanalerna oberoende av parasympatisk eller sympatisk stimulans (Macfarlane, 2018; Smith, 2014; Freeman: se Auer & Stick, 2012; Koenig & Cote, 2006; Malone *et al.*, 1996). Hos häst är kajalcellerna placerade i olika lager av tarmväggen beroende på i vilken del av tarmen de är lokaliserade. I tunntarmen finns de flesta kajalceller i nivå med myenteriska plexat mellan det cirkulära och longitudinella muskellagret, medan de i grovtarmen huvudsakligen återfinns i det cirkulära muskellagret. Flest kajalceller finns i ileum, flexura pelvina och cecum (Makhlouf,

1994: se Auer & Stick, 2012; Pavone & Madara, 2010: se Auer & Stick, 2012; Hudson *et al.*, 1999: se Koenig & Cote, 2006).

Myoelektrisk aktivitet i tarmen

Gastrointestinal motilitet kan mätas som myoelektrisk aktivitet, mekanisk aktivitet och passagetid (Roussel, 1994: se Navarre & Roussel, 1996). Myoelektrisk och mekanisk aktivitet överensstämmer inte alltid med passagetid, däremot är myoelektrisk och mekanisk aktivitet kopplade till varandra (Sarna, 1975: se Navarre & Roussel, 1996; Sarna & Otterson, 1988: se Navarre & Roussel, 1996; Merritt & Ruckebusch, 1988: se Navarre & Roussel, 1996). Två typer av myoelektrisk aktivitet har beskrivits; förutom de av kälcellerna initierade långsamma vågorna skapas även kortvariga elektriska impulser som resulterar i kontraktioner (Guyton, 2000; Sarna & Otterson, 1989: se Koenig & Cote, 2006; Navarre & Roussel, 1996). När kälcellerna skapar en aktivitet som är strax under tröskelvärde för elektrisk potential skapas en långsam våg som inte genererar några muskelkontraktioner (Guyton, 2000; Navarre & Roussel, 1996). Dessa långsamma vågor i den glatta muskulaturen har en vilopotential mellan -50 och -60 millivolt (mV) och de fortplantas kontinuerligt längs hela intestinalkanalen. När ytterligare aktionspotential adderas överstigs retningströskeln vid -40 mV, vilket utlöser en depolarisation av cellmembranet genom att kalcium strömmar in i cytoplasman som svar på acetylcholin och aktiverar muskelcellens myosinfilament vilket ger en tydlig kontraktion (Guyton, 2000; Navarre & Roussel, 1996). Det finns flera faktorer som kan starta depolarisering av cellmembranen i tarmens muskulatur och därmed öka motiliteten. Förutom transmittorsubstanser som acetylcholin kan sträckreceptorer och hormoner i gastrointestinalkanalen stimulera depolarisering och därmed öka kontraktionerna. Faktorer som verkar negativt på tarmmotiliteten genom att hyperpolarisera membranerna är adrenalin eller noradrenalin som via det sympatiska nervsystemet framkallar effekter motsatta till det parasympatiska nervsystemet (Guyton, 2000).

Olika typer av kontraktioner i tarmen

Segmentella och förflyttande kontraktioner är en kombination av aktivitet hos de cirkulära och longitudinella muskellagren i muscularis. Kontraktionsmönstren och intensiteten varierar i de olika avsnitten av gastrointestinalkanalen.

Segmentation är lokala kontraktioner som startar med att det cirkulära muskellagret kontraherar och delar upp ingestan i många små segment. Kontraktionerna följs av nya kontraktioner i cirkulär muskulatur som delar upp segmenten på nytt och på så sätt blandar ingestan med magsaft och möjliggör att all ingesta kommer i kontakt med mucosan för optimal absorption (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004).

Peristaltik är rytmiska kontraktioner där den cirkulära muskulaturen skapar en kontraktil ring, och den longitudinella muskulaturen flyttar ingestan distalt i gastrointestinalkanalen (Guyton, 2000; Macfarlane, 2018; Sjaastad *et al.*, 2004; Malone *et al.*, 1999). Den vanligaste stimuleringen för att starta peristaltiska kontraktioner är sträckreceptorer som reagerar på fyllnadsgrad i intestinalkanalen, men även kemiska och fysisk stimulering samt parasympatiska nervsystemet kan starta peristaltik (Guyton, 2000).

Antiperistaltik är kontraktioner i colon som verkar i motstående riktning mot peristaltiska kontraktioner och förlänger passagetiden för ingestan (Sjaastad *et al.*, 2004).

Mass movement: Större segment av cecum kontraherar simultant och bibehåller kontraktionen längre än vid en vanlig peristaltisk kontraktion. Mass movement förflyttar ingesta från cecum till colon (Sjaastad *et al.*, 2004).

Kontraktion i tunntarm

I tunntarm är segmentation det huvudsakliga kontraktionsmönstret, men även peristaltiska kontraktioner sker och flyttar födan distalt mot cecum. Kajalceller i tarmen fungerar som pacemakerceller och startar kontraktionerna. Frekvensen av kontraktionerna är högre i tunntarmen jämfört med cecum och colon (Sjaastad *et al.*, 2004). Hos häst är ingestans passagehastighet i tunntarmen högre jämfört med andra tarmsegment. Hastigheten och antalet kontraktioner per minut minskar ju mer distalt i tunntarmen ingestan befinner sig (Van Weyenberg *et al.*, 2006).

Kontraktioner i cecum

Cecum är en blindsäck med många sacculationer. I cecumbasen är ileocecalklaffen och övergången mellan cecum och colon placerade relativt nära varandra. Ingestan transporteras från tunntarmen till cecum genom ileocecalklaffen och sedan från cecum till höger ventrala colon. Ileocecalklaffen fungerar som en backventil, då den öppnar sig för tryck från ileum men står emot trycket som skapas i cecum (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004; Van Weyenberg *et al.*, 2006). I cecum sker segmentationskontraktioner frekvent. I intervaller på 3–5 min ersätts segmenteringen av mass movement som förflyttar ingesta från cecum till colon (Sjaastad, 2004; Koenig & Cote, 2006; Ross *et al.*, 1986). Kontraktionerna startar ventralt om övergången mellan cecum och colon. Starka kontraktioner flyttar ingesta upp och ner i cecum och pressar en del av ingestan ut i genom höger ventrala colonläge. (Ross *et al.*, 1986; Van Weyenberg *et al.*, 2006). Ett forsande ljud kan auskulteras med stetoskop, samtidigt som aboralt förflyttande kontraktioner sker i cecum och intilliggande höger ventrala colon. Kontraktionerna initieras sannolikt från ett område med pacemakerceller i cecum och resulterar i förflyttning av ingesta från cecum till colon (Ross *et al.*, 1986).

Precis som i tunntarm består det myoelektriska mönstret av långsamma vågor och elektriska impulser som utlöser kontraktioner. I cecum och colon kan två huvudsakliga kontraktionsutlösande mönster ses, ”*short spike burst*” (SSB) och ”*long spike burst*” (LSB). SSB skapar segmentell kontraktion utan framåt drivning medan LSB ger förflyttning både aboralt och oralt. (Navarre & Roussel, 1996).

Kontraktioner i colon

Hästen är en enkelmagad grovtarmsjäsare och det är viktigt att transporten av ingestan inte är för snabb då tiden i grovtarmen är viktig för nedbrytning av ingestan och därmed möjliggör energiupptag (Sjaastad *et al.*, 2004). Flexura pelvina är övergången mellan vänster sidas ventrala och dorsala colonläge och har ett betydligt mindre lumen än övriga delar av colon. I flexuren kan små partiklar och vätska passera lätt, medan större partiklar kvarhålls tills de är små nog att passera. Flexura pelvina får på detta sätt en sfinkterliknande funktion och förlänger

passagetiden och tiden för mikrobiell nedbrytning i colon (Dyce *et al.*, 2010; Sjaastad *et al.*, 2004; Ross *et al.*, 1986).

I colon finns tre typer av kontraktioner; segmentation, peristaltik och antiperistaltik. Segmentation är den vanligaste formen i både cecum och colon, även om den sker med lägre frekvens jämfört med tunntarmen. Peristaltiska kontraktioner initieras av pacemakerceller i främre delen av colon som skickar depolariserande vågor distalt och driver ingestan mot rektum (Sjaastad *et al.*, 2004; Ross *et al.*, 1986; Van Weyenberg *et al.*, 2006). Kontraktionerna är som starkast i området runt pacemakerceller vilket försvårar för ingestan att passera dessa, men den anatomiska positionen av pacemakercellerna är inte konstant vilket gör att dessa områden varierar.

Parasympatisk stimulering ökar frekvensen och styrkan på kontraktionerna, medan det sympatiska nervsystemet har motsatt effekt (Guyton, 2000; Sjaastad *et al.*, 2004). I området för flexura pelvina har pacemakerceller observerats, dessa startar antiperistaltiska kontraktioner som förflyttar ingesta oralt (Sjaastad *et al.*, 2004; Koenig & Cote, 2006). Det myoelektriska mönstret beskrivet för cecum med SSB och LSB uppstår även i colon (Navarre & Roussel, 1996).

Det normala antalet kontraktioner i tarm varierar stort i olika studier både avseende frekvensen av kontraktionerna, men även vad gäller lokalisation för mätningen, antalet mätningar och mättiden. I studier där antalet kontraktioner per minut i cecum har utvärderats på friska hästar med hjälp av ultraljud varierar det uppmätta normala spannet mellan 1.7–16.7 kontraktioner per minut. (Donnellan *et al.*, 2013; Hendrickson *et al.*, 2007; Koenig *et al.*, 2008; Mitchell *et al.*, 2005; Sasaki *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2015).

Muskarinreceptorer

Muskarinreceptorer är G-proteinkopplade receptorer som stimuleras av acetylcholin frisatt från parasympatiska nervändar. Det finns fem kända subtyper av muskarinreceptorer (M₁, M₂, M₃, M₄, M₅) (Norlén, 2004; Nathanson, 2012; Rang & Dale, 2011; Ehlert *et al.*, 1997; Brunton *et al.*, 2011). De olika muskarinreceptorerna är kopplade till olika G-protein och verkar genom att reglera jonkanaler som ger receptorn sin excitatoriska eller inhibitoriska effekt (Rang & Dale, 2011; Brunton *et al.*, 2011). Receptorerna spelar en viktig roll i upprätthållandet av det kontraktila läget i kroppens glatta muskulatur i ciliarmuskeln, irissfinktern, luftvägarna, urinblåsan och gastrointestinalkanalerna, men har även andra viktiga funktioner såsom att stimulera sekretion och dämpa hjärtfrekvensen. I vissa vävnader kan muskarinagonister som acetylcholin ge relaxation av glatt muskulatur vilket är viktigt i sfinkterliknande strukturer i gastrointestinalkanalerna (Nathanson, 2012; Ehlert *et al.*, 1997; Malone *et al.*, 1999).

M₁ återfinns i CNS, perifera nerver och magsäckens parietalceller. M₂ receptorer finns i hjärtmuskulaturen och är ansvarig för att förmedla den parasympatiska kolinergiska hämningen av hjärtats frekvens och slagkraft. M₂ uttrycks även tillsammans med M₃ i visceral glatt muskulatur och bidrar där till stimulering av till exempel tarmens muskulatur. M₃ har huvudsakligen excitatorisk effekt genom att stimulera kontraktion, men stimulerar även sekretion från exokrina körtlar (Norlén, 2004; Brunton *et al.*, 2011; Malone *et al.*, 1999; Rang

& Dale, 2011). I ett fåtal perifera nerver i det enteriska nervsystemet samt det centrala nervsystemet kan intracellulära mediatorer frisättas och mediera relaxation av glatt muskulatur med hög kontraktilton. Acetylkolinfrisättningen tros kunna hämmas genom en ”negativ feedback”-mekanism där acetylkolin binder till autoreceptorer på M₂- och M₄-receptorer. Vid vissa nervterminaler i myenteriska plexat i gastrointestinalkanalen samt i sinusknutan i hjärtat, ligger de sympatiska och parasympatiska nerverna nära intill varandra vilket medför att acetylkolin och noradrenalin kan få motsatta effekter i dessa vävnader (Brunton *et al.*, 2011). I litteratur av Nathanson (2012) samt reviewartikel av Ehlert *et al.*, (1997) uppges fördelningen mellan M₂ och M₃ receptorer i den glatta muskulaturen vara 4:1 i de flesta vävnader men i ursprungskällan Michel & Whiting (1987) verkar det saknas stöd för påståendet att detta är den exakta fördelningen mellan receptorerna. I iris är majoriteten av receptorerna av typen M₃ (Nathanson, 2012; Ehlert *et al.*, 1997). M₄ och M₅ återfinns i CNS och deras funktion har inte utretts i någon större omfattning (Rang & Dale, 2011).

Muskarinantagonister

Administrering av muskarinantagonister, även kallat antikolinergika eller parasympatolytika, blockerar acetylkolins effekter och ger därför många motsatta effekter till parasympatikus som till exempel takykardi, nedsatt tarmmotorik, vidgade pupiller och minskad sekretion (Norlén, 2004; Brunton *et al.*, 2011; Wehrman *et al.*, 2017). Effekterna av antikolinergika är dosberoende och de fysiologiska funktionerna i kroppen har en varierande sensitivitet för muskarinreceptorblockering. Små doser minskar salivering, bronkiell sekretion och svettning medan högre doser ger en dilaterad pupill, nedsatt ackommodation av linsen och takykardi. Höga doser av antikolinergika ger sänkt tarmmotilitet (Plumb, 2011; Brunton *et al.*, 2011; Roberts & Argenzio, 1986). Relationen mellan dos av atropin och systemiska effekter beror troligen på i vilken grad organsystemen regleras av parasympatikus och är inte en konsekvens av receptoraffinitet hos muskarinreceptorerna (Brunton *et al.*, 2011). De flesta muskarinantagonister är oselektiva på de fem receptortyperna, medan det inom gruppen muskarinantagonister finns en stor variation avseende selektivitet (Rang & Dale, 2011).

Atropin och hyoscin är två naturligt förekommande muskarinantagonister som utvinns ur potatisväxter (*Solanaceae*). I rötter, blad, blommor och bär från växterna Belladonna (*Atropa belladonna*), Spikklubba (*Datura stramonium*) och Bolmört (*Hyoscyamus niger*) med flera, finns alkaloider som atropin, hyocyamin och scopolamin (Hollman, 1991; Berdai *et al.*, 2012; Rang & Dale, 2011; Shutt & Bowes, 1979). De anses vara oselektiva kompetitiva muskarinreceptorantagonister och blockerar alla typer av muskarinreceptorer (Rang & Dale, 2011).

De finns även en rad syntetiska muskarinantagonister utvecklade för olika indikationer. Dessa kan ha en viss selektivitet på olika receptortyper. Muskarinantagonister kan ha en tertiär eller kvartär molekystruktur vilket avgör deras egenskaper och möjlighet att passera barriärer. Tertiära molekyler som atropin och hyoscin kan passera blod-hjärnbarriären och har därmed effekt på det centrala nervsystemet, medan de kvartära molekylerna är för stora för att passera blod-hjärnbarriären och därmed endast har perifera effekter (Rang & Dale, 2011).

Atropin

Atropin är en kompetitiv antagonist på muskarinreceptorer och inhiberar acetylkolins effekt (Brunton *et al.*, 2011; Rang & Dale, 2011). Det finns flera fallbeskrivningar av atropinförgiftningar på människa. Dels efter förtäring av bär från *Atropa belladonna* eller andra växter i samma familj, men även efter överdoseringar av läkemedel (Beatson, 1982; Clegg, 1936; Berdai *et al.*, 2012). Det vanligaste användningsområdet för atropin inom veterinärmedicinen för behandling av häst, är topikal behandling av vissa ögonskador och ögonsjukdomar (Dalin, 2014). Intravenös administrering av atropin kan även användas som en del i behandlingen vid uttalad sinusbradykardi under narkos hos häst (Orsini & Divers, 2014).

De systemiska effekterna av atropin är dosberoende och det krävs enligt litteraturen högre doser för att inhibera tarmmotilitet än att dilatera pupillen. (Brunton *et al.*, 2011; Roberts & Argenzio, 1986). Relationen mellan dos och systemiska effekter beror troligen på i vilken grad organsystemen regleras av parasympatik, och är inte en konsekvens av receptoraffinitet hos muskarinreceptorerna (Brunton *et al.*, 2011). Atropins effekt på motiliteten i tarm är väl känd och anses kunna vara en bidragande faktor till utvecklandet av ileus och kolik hos häst efter topikal administrering (Beatson, 1982; Brooks, 2002). Flera forskargrupper har undersökt atropins systemiska effekter hos häst genom experimentella försök med olika administrationsvägar.

Atropins effekter efter intravenös administrering har utvärderats vid flera tillfällen. Dosen 0,044 mg/kg förekommer i studier av både Ducharme & Fubini (1983) samt Adams *et al.*, (1984). Ducharme & Fubini visade på nedsatta auskulterbare tarmljud och ponnyer som slutade äta inom 30 minuter efter administrering. En ponny utvecklade kolik efter 90 minuter. Adams *et al.*, (1984) visade genom att använda implanterade elektroder, att jejunum och flexura pelvinas elektriska aktivitet nästan upphörde helt efter administrering av nämnd atropindos.

Påverkan på auskulterbare tarmljud genom topikal behandling med atropin i olika doseringsregimer finns rapporterat i litteraturen (Dalin, 2014; Domberg, 2014; Wehrman *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2000). Williams *et al.*, (2000) studerade atropins effekter efter topikal administrering i ett försök med sex hästar som behandlades med 1 mg atropin i ett öga varje timme under 24 timmar. Buken auskulterades under 60 sekunder per kvadrant på höger respektive vänster sida. Alla sex hästar hade frånvaro av tarmljud under två till arton timmar efter atropinbehandling, fyra hästar visade dessutom tecken på buksmärtor. I samma försök administrerades atropin med subkonjunktival injektion i dosen 3 mg vid ett tillfälle till fem hästar varav tre utvecklade nedsatta tarmljud och en häst utvecklade kolik. För att kunna administrera den subkonjunktivala injektionen sederades hästarna med xylazin intravenöst. Varken topikal eller subkonjunktival injektion gav någon takykardi eller förändringar på det EKG som registrerades.

I examensarbeten av Dalin (2014) och Domberg (2014) administrerades atropin topikalt i hög respektive låg dos. Hög dos innebar att hästarna administrerades 1 mg atropin var tredje timme i 48 timmar och sedan var 12:e timme i ytterligare 72 timmar (Dalin, 2014). Vid låg dos behandlades hästarna med 1 mg atropin var sjätte timme under de första 48 timmarna och sedan en gång per dygn i ytterligare 72 timmar (Domberg, 2014). Tarmljuden auskulterades på höger

och vänster sida var tredje timma under 48 timmar, följt av var sjätte timma i ytterligare 72 timmar. Ingen häst utvecklade symptom på buksmärtor, men vid auskultation kunde signifikant nedsatta tarmljud noteras hos hästar som fick hög dos atropin jämfört med placebo (Dalin, 2014) men ingen skillnad sågs i grad av auskulterbare tarmljud mellan låg dos atropin och placebo (Domberg, 2014). Resultaten från studien av Domberg (2014) överensstämmer med Wehrman (2017) där hästar administrerades 1 mg atropin topikalt var sjätte timme under 24 timmar och sedan var 12:e timme under ytterligare fyra dygn utan att några tecken på kolik eller takykardi. Bukens fyra kvadranter auskultades var 12:e timme och ingen häst i studien observerades med nedsatta tarmljud.

I ett examensarbete av Carolina Johansson (2016) undersöktes biotillgängligheten av atropin samt de terminala halveringstiderna beräknades utifrån plasmakoncentrationer under försöket. Sex hästar deltog i studien vid tre tillfällen vardera, då de fick 1 mg atropin intravenöst, 1 mg atropin manuellt administrerat topikalt eller via topikal infusionspump vilken administrerade 0,14 mg atropin per timme (totalt 3,36 mg atropin under ett dygn). Halveringstiderna beräknades till 45,5 minuter efter intravenös administrering och 59 minuter efter topikal administrering (Johansson, 2016).

Sammantaget finns i litteraturen belagt att atropin vid frekventa topikala givor samt höga intravenösa administrerade doser, kan framkalla ileus och kolik hos häst. Dos-respons förhållandet mellan atropin och nedsatt tarmmotilitet är ännu inte klarlagt.

Hyoscinbutylbromid

Hyoscinbutylbromid har en kvartär struktur och passerar därmed inte blod-hjärnbarriären men hämmar glatt muskulatur i intestinalkanalen samt urin- och gallvägar. Efter intravenös administrering är den spasmolytiska effekten mycket snabb. Hos häst kan administrering ge en svag ökning av hjärtfrekvensen. Hyoscinbutylbromid finns i det humanmedicinska läkemedlet Buscopan® samt även i det veterinärmedicinska läkemedlet Spasium vet, där hyoscinbutylbromid förekommer i kombination med metamizol som är ett NSAID med analgetisk, antipyretisk och spasmolytisk effekt (Läkemedelsindustriföreningen, 2015; Läkemedelsindustriföreningen, 2018). Buscopan® används på häst för att minska kontraktioner i tarmen vid rektalisering, medan Spasium vet har indikation för att behandla spasmodisk kolik och andra kramptillstånd i glatt muskulatur hos häst (Orsini & Divers, 2014; Läkemedelsindustriföreningen, 2015).

Ileus

Ileus är en störning i tarmens normala motilitet och kan ge symptom på buksmärtor hos många djurslag. Definitionen av ileus är avsaknad av aboral peristaltik oavsett bakomliggande patofysiologi (Doherty, 2009; Smith, 2014; Koenig & Cote, 2006; Zachary & McGavin, 2011). Tarmen paralyseras inte helt men blir refraktionär, vilket resulterar i en tonisk stimulering av den glatta muskulaturen och ileus kan uppstå hos de flesta djurslag (Zachary & McGavin, 2011). De kliniska symptomen på ileus är ofta nedsatt allmäntillstånd, tecken på buksmärtor, nedsatta tarmljud samt minskad mängd träck (Smith, 2014). Hos människa klassificeras ileus utifrån durationen av de kliniska symptomen. Adynamisk ileus innebär en kortvarig förändring

i motiliteten medan vid paralytisk ileus har tarmens motilitet varit frånvarande under minst 72 timmar (Robinson, 1997: se Koenig & Cote, 2006; Zachary & McGavin, 2011).

Chock, elektrolytstörningar, hypoalbuminemi, endotoxinemi, distension, ischemi eller inflammation av gastrointestinalkanalen är alla faktorer som kan vara delaktiga i patofysiologin till ileus hos häst (Blikslager *et al.*, 1994; King & Gerring, 1991: se Koenig & Cote, 2006). En obalans mellan den sympatiska och parasympatiska stimuleringen av tarmen har antagits vara en underliggande orsak till ileus, där både sympatisk hyperaktivitet och parasympatisk hypoaktivitet resulterar i minskning av framåtdrivande kontraktioner och en ökning av sfinktertonen (Guyton, 2000; Koenig & Cote, 2006).

Flera sjukdomar och syndrom hos häst som sannolikt involverar förändrad gastrointestinal motilitet inkluderar postoperativ ileus och cecumkoprostas, men även magsår, peritonit, obstruktion och inflammatoriska tarmsjukdomar (Smith, 2014). Den vanligaste typen är enligt litteraturen postoperativ ileus som är relativt vanligt förekommande på hästar som har genomgått laparotomi (Doherty, 2009; Smith, 2014; Zachary & McGavin, 2011). Teorin om etiologin är att hanteringen av tarmen under operationen skapar en kraftig inflammation i muscularis, vilket reducerar kontraktionsintensiteten och därmed ger postoperativ ileus (Bauer, 2008: se Doherty, 2009; Zachary & McGavin, 2011). Tarmens motilitet kan också påverkas av en rad läkemedel som anestesi, sedering och antikolinergika (Smith, 2014, Orsini & Divers, 2014).

Patofysiologin bakom en tömningsdefekt i cecum som leder till cecumkoprostas är inte känd. Till skillnad mot postoperativ ileus så drabbas inte hästar som har genomgått laparotomi av cecumkoprostas i högre grad än andra hästar (Smith, 2014). Observationer av hästar med cecuminpackningar har visat på en cecum fylld med ingesta av normal konsistens och en relativt tom colon utan några tecken på obstruktion i övergången mellan cecum och colon (Ross *et al.*, 1986). Retrospektiva studier har visat på att cecum kan vara en vanlig lokalisering för ileus hos häst (Smith, 2014, Lester *et al.*, 1992, Roussel *et al.*, 2001).

Sammanfattningsvis är tarmens innervering en komplex interaktion av flera faktorer, där acetylcholin och parasympatik stimulerar tarmmotilitet, medan noradrenalin och sympatiska nervsystemet har en motsatt hämmande effekt genom att minska frisättningen av acetylcholin. Atropin administreras topiskt vid behandling av flera ögonskador hos häst och har en dosberoende effekt på flera organfunktioner där ileus tillhör de mest oönskade. Flera studier har genomförts för att utvärdera effekten på tarmmotiliteten hos häst, och därmed risken för att hästar under atropinbehandling utvecklar kolik, utan att helt kunnat klarlägga vid vilka doser och plasmakoncentrationer risk föreligger.

Metoder för att bedöma tarmmotilitet

Auskultation av tarm är en vanlig diagnostisk metod i klinisk verksamhet där veterinären lyssnar på tarmljud med hjälp av stetoskop. Sellers & Lowe (1984) har visat på korrelation mellan tryckförändringar i grovtarm och auskulterbare tarmljud (Sellers & Lowe, 1984; se Ehrhardt & Lowe, 1990). Auskultation av tarmljud har visat sig ha en hög reproducerbarhet då veterinärer har fått gradera inspelade ljud. Reproducerbarheten var störst när samma veterinär lyssnade på ljuden vid flertalet tillfällen medan det fanns viss skillnad i hur olika veterinärer

graderade ljuden (Ehrhardt & Lowe, 1990). I flertalet atropinstudier har auskultation använts för att gradera tarmmotilitet (Dalin, 2014; Domberg, 2014; Johansson, 2016; Ducharme & Fubini, Wehrman *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2000). I studier av Dalin (2014), Domberg (2014) och Williams *et al.*, (2000) har auskultation utförts av bukens fyra kvadranter under sextio sekunder per kvadrant. Auskultationen bedömdes som avsaknad av tarmljud (0), tarmljud under delar av auskultationsperioden (1) eller tarmljud under hela auskultationsperioden (2).

Transkutant ultraljud är en icke-invasiv metod för att utvärdera organ i bukhålan. Den redovisade normala kontraktionsfrekvensen i cecum hos häst uppmätt med ultraljud visar på en stor variation, 1,7–16,7 kontraktioner per minut (Donnellan *et al.*, 2013; Hendrickson *et al.*, 2007; Koenig *et al.*, 2008; Mitchell *et al.*, 2005; Sasaki *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2015). Det är med ultraljud inte möjligt att skilja mellan olika typer av kontraktioner (Mitchell *et al.*, 2005). Både Williams *et al.*, (2011) samt Koenig *et al.*, (2008) belyser svårigheten med att tarmsegment kan flyttas ur bild, vilket innebär att kontraktioner kan missas. Elektointestinografi är en metod där elektroder appliceras på huden efter att tarmen har lokaliserats med ultraljud (Koenig *et al.*, 2008).

MATERIAL OCH METODER

Studiedesign

Studien utfördes som en randomiserad crossoverstudie. Försöken pågick vid nio tillfällen med en häst vid vardera omgången. Hästarna randomiserades in i vilken försöksomgång och vilken behandling de gavs vid varje tillfälle genom lottning. Mellan varje enskild hästs deltagande var det ett uppehåll på minst tjugo dagar, så kallad washout period. De personer som utvärderade effekten av atropin var blindade för val av behandling under hela den experimentella delen. I studien exponerades hästarna för atropin eller placebo (natriumklorid) genom en intravenös infusion och tarmmotoriken övervakades med auskultation, elektointestinografi och ultraljud. Noteringar gjordes avseende om hästarna hade träckavgång och om pupillerna var ljusresponsibla. Hästarna utrustades även med elektrokardiografi och övervakades för kliniska symtom på kolik under försöksdagarna.

Hästar

I försöket ingick fyra friska svenska varmblodiga travare, två valacker och två ston, ägda av Kliniska vetenskaper, Sveriges lantbruksuniversitet. Varje häst utom Häst 1 deltog i studien vid två tillfällen och fick vid ett tillfälle infusion av Atropin Mylan 0,5 mg/ml i dosen 0,009 mg/kg och vid det andra tillfället infusion av placebo (natriumklorid). Häst 1 deltog i studien vid tre tillfällen och fick atropin i två olika doser (0,006 mg/kg och 0,009 mg/kg), samt placebo vid ett tillfälle.

Inför försöken vägdes hästarna (480–675 kg) och förbereddes med två permanenta venkatetrar, en avsedd för infusion och en för provtagning, i vänster respektive höger jugular. Pälsen i området för cecum och dorsala colonläget på höger sida klipptes för att underlätta mätningarna. Hästarna motionerades i skrittmaskin direkt innan försöken påbörjades och en klinisk undersökning avseende allmäntillstånd, kroppstemperatur och hjärtfrekvens utfördes för att säkerställa att hästarna inte visade tecken på sjukdom. Under försöken hölls hästarna på box

med fri tillgång på grovfoder och vatten. Kraftfoder fodrades enligt hästarnas normala foderstater. Användningen av hästarna är godkänd av Uppsala djurförsöksetiska nämnd, Dnr C148/13.

Tabell 1. Användning av hästarna i försöksomgångarna

	Försöksomgång, behandlingsmetod och dos.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Häst 1	A ₁		P						A ₂
Häst 2		P		A ₂					
Häst 3					P		A ₂		
Häst 4						A ₂		P	

A₁: Atropin 0,006 mg/kg. A₂: Atropin 0,009 mg/kg. P: Placebo (Natriumklorid).

Behandlingsprotokoll

Hästarna fick en kontinuerlig infusion av atropin spädd i natriumklorid eller placebo (endast natriumklorid) under 30 minuter. Infusionerna administrerades med hjälp av intravenös infusionspump i en venkateter i vänster sidas jugular avsedd endast för infusionen.

Undersökningsprotokoll

Auskultation

Auskultation utfördes av bukens fyra kvadranter under sextio sekunder per kvadrant. Auskultationen bedömdes som avsaknad av tarmljud (0), tarmljud under delar av auskultationsperioden (1) eller tarmljud under hela auskultationsperioden (2). Samma bedömningsskala och tid för mätning vid varje kvadrant har tidigare använts av Dalin (2014), Domberg (2014) och Williams *et al.* (2000). Auskultationerna utfördes var femtonde minut under försökets första fyra timmar, sedan var trettionde minut under en timme och varje timme under försökets sista fem timmar. Auskultationerna utfördes av samma observatör vid alla försöksomgångarna.

När auskultationspoängen från varje mättillfälle summerades erhöles en poängskala mellan noll till åtta, där noll poäng representerar total avsaknad av tarmmotilitet och åtta representerar full tarmmotilitet. Genom att integrera poängsiffrorna över tid kunde ett ackumulerat antal poängtimmar kalkyleras. Antalet poängtimmar är en kontinuerlig slumpvariabel och förenklade sannolikhetsberäkningar och analys av statistisk signifikans.

Ultraljud

Hästarna förbereddes genom att pälsen klipptes i höger flank och området tvättades med tvål och vatten innan sprit och ultraljudsgel applicerades på huden. Med hjälp av lågfrekvent (3–4 Hz) ultraljud (LOGIQ e Veterinary, GE Medical Systems) med konvex prob räknades antalet kontraktioner under tre minuter i cecum och höger dorsala colonläge. Ultraljudsmätningarna utfördes samtidigt med auskultationerna enligt ett förutbestämt protokoll. Cecum lokaliserades i höger sidas paralumbarfossa och kändes igen genom sina många saculationer. Höger dorsala

colonläge har en stor lumen och identifierades kranioventralt om leverns högra lob och duodenum. Kontraktioner definierades som en tydlig rörelse i tarmväggen som resulterade i en minskning av lumen. Innan en ny kontraktion räknades skulle lumen återfått sin ursprungliga storlek.

Elektrointestinografi (EIG)

Elektroder fästes på de klippta områdena över cecum och höger dorsala colonläge efter att dessa strukturer hade lokaliserats med ultraljud. EIG spelades in under 5 minuter långa sekvenser enligt ett förbestämt schema. Impedansen i elektroderna kontrollerades flera gånger under dagen och vid behov byttes elektroder med försämrad kontakt till nya. Insamlade data från mätningar med EIG har inte analyserats inom ramen för detta examensarbete.



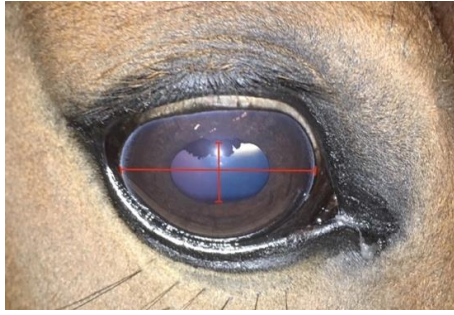
Figur 1. Häst 1 vid en av försöksdagarna (Foto: Annika Källse).

Elektrokardiografi (EKG)

Trådlöst EKG (Televet, Kruuse) registrerade hjärtats elektriska aktivitet och hjärtfrekvens hos hästarna under hela försöksdagen. Dessa inspelningar har inte analyserats i sin helhet i detta examensarbete utan endast det momentana värdet vid varje mätning enligt förutbestämt protokoll har registrerats.

Pupillreflex och vertikal pupilldiameter

I samband med auskultation och ultraljudsundersökning kontrollerades pupillens storlek och om den var ljusresponsibel med fokalt ljus. En subjektiv bedömning gjordes utifrån om pupillen svarade på ljusstimulering samt om den var normalstor. Bedömningen nedsatt pupillreflex gjordes när pupillen svarade på ljus långsammare än vad som kan antas vara normalt. I de två första försöksomgångarna (Häst 1, atropin 0,006 mg/kg samt Häst 2, placebo) gjordes dessa kontroller mer sporadiskt under dagen men vid övriga omgångar utfördes kontrollen vid varje auskultation. Under försöken med Häst 3 och Häst 4 fotograferades även höger öga vid varje observationstillfälle och vertikal pupilldiameter kunde bestämmas genom att bestämma pupillens vertikala mått när avståndet mellan limbus och limbus var konstant (Figur 2).



Figur 2. Hästöga med avståndet limbus till limbus och vertikal pupilldiameter markerat (Foto: Lena Ström).

Tecken på kolik

Hästarna övervakades under försöksomgångarna avseende tecken på dämpat allmäntillstånd, kolik samt nedsatt aptit. Hästarna bedömdes vara dämpade när de stod med låg huvudposition, öronen utåt sidorna och inte interagerade med observatörerna. Nedsatt aptit bedömdes då hästarna hade en tydlig minskning i intag av grovfoder. Tecken på kolik bedömdes som tecken på obehag från buken så som tandgnissling, upprepat skrapande med framben, sparkar eller tittar mot magen.

Hästarnas träckavgång registrerades under försöksdagarna genom att anteckna tidpunkt för avföring.

Statistisk analys

Att använda normalfördelning vid analys av auskultationsobservationer vore i detta fall olämpligt då alla mätvärden är större eller lika med noll vilket gör att sannolikhetsfördelningen inte rimligen kan vara symmetrisk. Ett standardantagande för denna situation är att det observerade antalet poängtimmar, som betraktas som slumpmässigt, följer en så kallad gammafördelning. Gammafördelningen kan enkelt skattas genom den så kallade momentmetoden i vilken parametrarnas skattning görs så att den skattade gammafördelningens väntevärde och varians överensstämmer med det observerade antalet poängtimmars medelvärde och stickprovsvarians.

Då en fördelning har skattats kan ett konfidensintervall skapas för det observerade antalet poängtimmar. Det är naturligt att konfidensintervallet börjar vid noll, det lägsta möjliga antalet poängtimmar, och sedan går till det kritiska värde (c_1) sådant att konfidensintervallet får konfidensgrad 95 %. Det kritiska värdet (c_1) erhålles ur den som ovan skattade fördelningen genom dess 95:e percentil, som beräknats med ett datorprogram. Om ett observerat antal poängtimmar är större än det kritiska värdet (c_1) är tolkningen att det observerade värdet är större än vad slumpen allena rimligen skulle kunna orsaka, och därmed att det måste finnas en underliggande systematisk variation som höjer det observerade antalet poängtimmar till en nivå högre än den vid placebo.

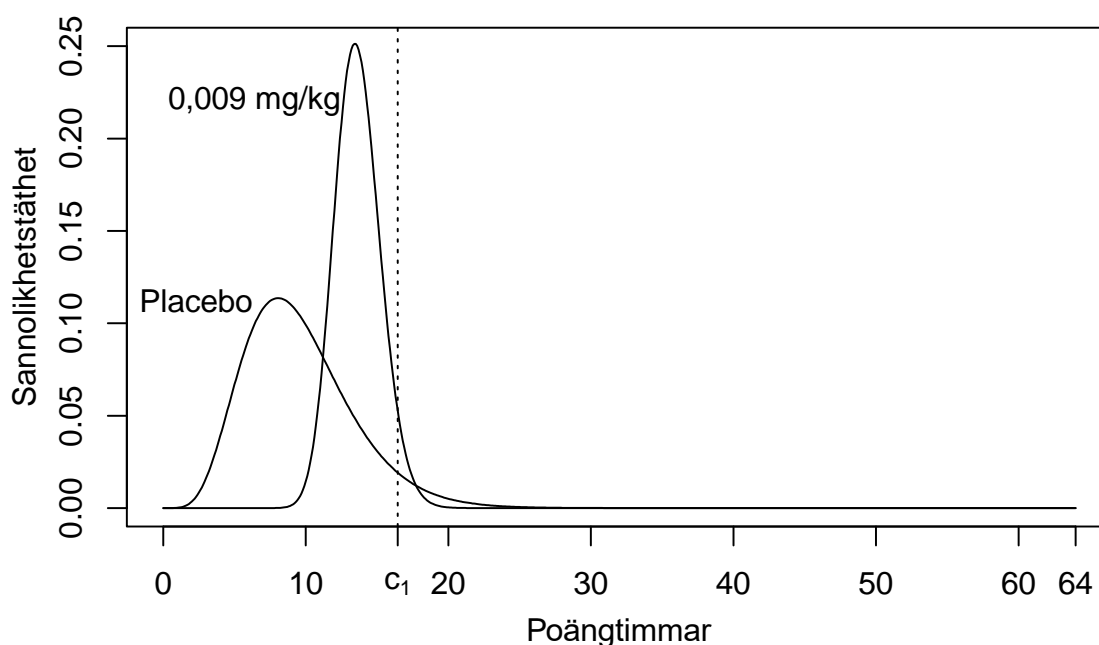
Simuleringar av plasmakoncentration-tidsförloppet av atropin

Två doser 0,006 samt 0,009 mg/kg som konstantinfusion över 30 min simulerades i Maxim 2 (Fraunhofer-Chalmers center, Göteborg). Farmakokinetik-parametrarna baserades på Johanssons data (2016).

RESULTAT

Auskultation

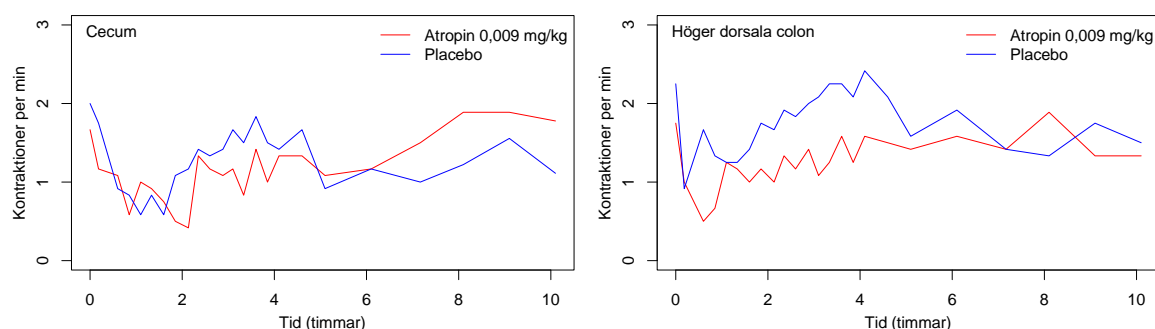
Data från auskultationerna vid varje försöksomgång har sammanställts i Bilaga 1. De nedsatta tarmljuden efter administrering av atropin inträffade under perioden 15–120 minuter med individuell variation bland hästarna i när och hur länge den nedsatta tarmmotoriken kvarstod. Den ackumulerade funktionsminskningen hos hästar som behandlades med atropin uppmättes till 11,35–15,08 poängtimmar. I gruppen som behandlades med placebo var variationsvidden 6,93–15,06 poängtimmar. De uppmätta intervallen av poängtimmar för de olika grupperna (placebo respektive atropinbehandling) överlappar varandra men den del av de atropinbehandlade hästarna som nådde över det kritiska värdet, C_1 i gammafördelningen (Figur 3) uppvisade signifikant nedsatta tarmljud och motsvarar 4,5 % av alla hästar på populationsnivå.



Figur 3. Skattade sannolikhetsfördelningar för ackumulerad funktionsminskning (poängtimmar) för de två behandlingsgrupperna. Gränsvärdet c_1 utgör övre gräns för 95 % konfidensintervall för placebogruppen, och kan tolkas som gräns för normal tarmmotilitet för jämförbara hästar.

Ultraljud (UL)

Resultaten från mätningarna med ultraljud illustreras i Bilaga 2. I Figur 4 visas den genomsnittliga kontraktionsfrekvensen per minut för varje behandlingsgrupp och lokalisation vid varje mättillfälle. Tabell 2 redogör för antalet kontraktioner/ tre minuter för varje häst samt den genomsnittliga kontraktionsfrekvensen per minut.



Figur 4. Genomsnittlig kontraktionsfrekvens per minut i cecum respektive höger dorsala colon vid varje mättillfälle för de två behandlingsgrupperna.

Tabell 2. Variationsvidd (antal kontraktioner/ tre minuter vid ultraljudsmätning samt genomsnittlig kontraktionsfrekvens per minut vid varje lokalisation)

	Placebo		Atropin	
	Cecum	Colon	Cecum	Colon
Häst 1	0–9	3–9	1–9	0–6
Häst 2	2–10	2–16	0–7	2–8
Häst 3	1–5	1–5	1–5	0–5
Häst 4	1–5	0–5	0–6	2–6
Kontraktioner per minut	0–3,3	0–5,3	0–3	0–2,7

Tecken på kolik

Häst 1 fick lindrig kolik (efter administrering av 0,009 mg/kg atropin) under perioden 30 minuter till 1,5 timme och visade det genom att gnissla tänder, skrapa och stampa med ett framben samt titta sig mot buken upprepade gånger. Häst 1 fick vid sitt första deltagande i studien en lägre dos (0,006 mg/kg) och visade då inga tecken på buksmärta eller nedsatt aptit under försöksomgången. Häst 2 blev efter atropininfusion (0,009 mg/kg) dämpad och introvert med tydlig inappetens cirka 60 minuter efter infusionens start, vilket höll i sig i 30 minuter. Häst 3 stod lugnt under båda försöksomgångarna men upplevdes dämpad och slutade äta under perioden 45 minuter till 1,5 timme efter infusionsstart. Häst 4 blev strax innan infusionen stängdes av vid 30 minuter lindrigt dämpad och stod med sänkt huvud under totalt cirka 15

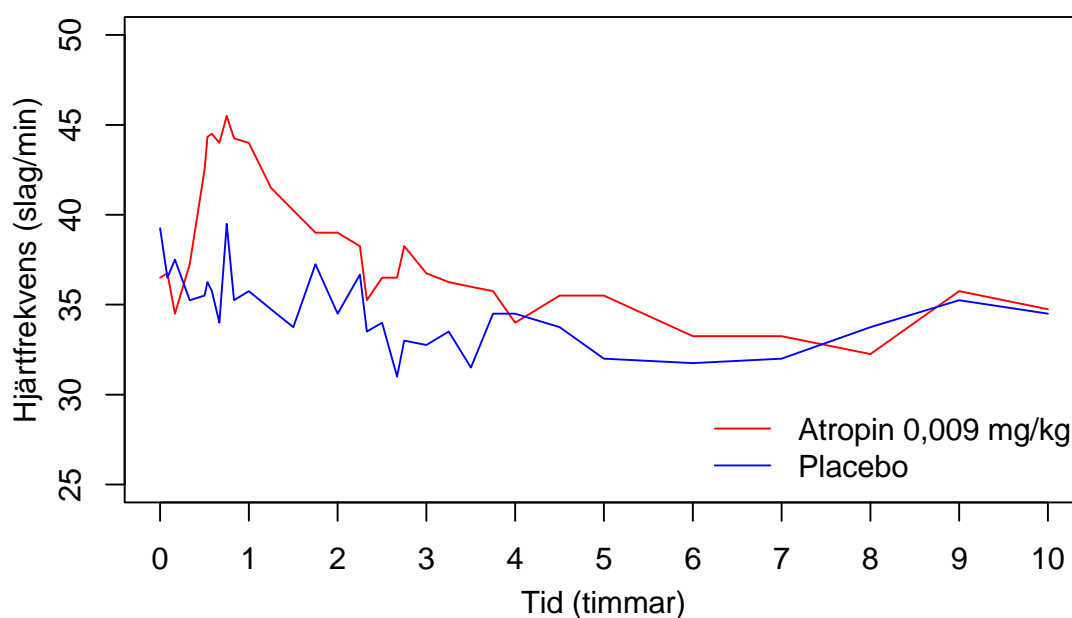
minuter. Ingen av hästarna visade några tecken på kolik eller nedsatt aptit vid administrering av placebo.

Hästarnas träckavgång registrerades under försöken och varje individuell häst hade liknande antal avföringshögar (± 1) vid deras två försöksomgångar. Den individuella variationen mellan olika hästar var (2–7).

Elektrokardiografi (EKG)

Figur 5 visar den genomsnittliga hjärtfrekvensen vid varje mättillfälle för de två behandlingsgrupperna. Hästar som fick atropin hade en aningen högre hjärtfrekvens än hästar med placebo vid infusionens avslut, 30 minuter in i studien och i ytterligare 1,5 timme.

I samband med mätningarna har anteckningar gjorts om yttre störningsmoment som ansågs påverka hjärtfrekvensen under korta perioder, dessa avvikande datapunkter har sorterats bort.



Figur 5. Genomsnittlig hjärtfrekvens per minut vid varje mättillfälle för de båda behandlingsgrupperna.

Pupillreflex och vertikal pupilldiameter

Häst 1 (0,006 mg/kg atropin): Pupillreflexen kontrollerades med fokalt ljus vid enstaka tillfällen och pupillerna var då ljusresponsibla.

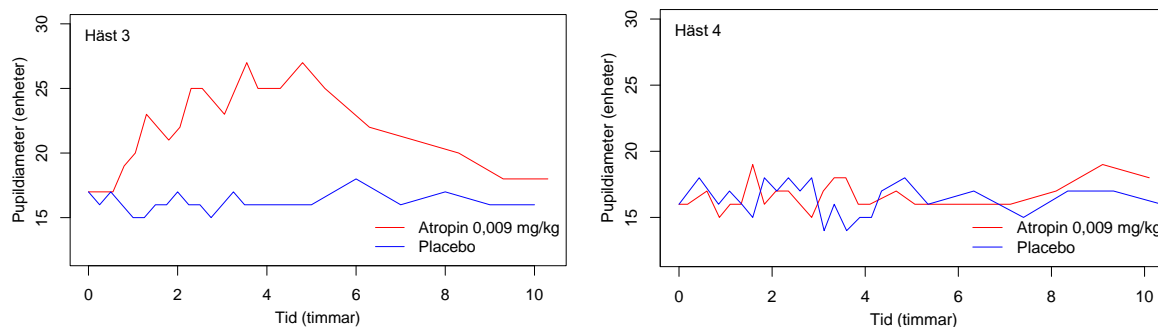
Häst 1 (0,009 mg/kg atropin): Nedsatt pupillreflex i perioden 30 minuter – 1,5 timme.

Häst 2 (0,009 mg/kg): Nedsatt pupillreflex i perioden 30 min – 6 timmar. Pupillen var tydligt dilaterad under perioden 50 minuter – 2 timmar och 45 minuter.

Häst 3 (0,009 mg/kg): Nedsatt pupillreflex från 60 minuter – 6 timmar. Pupillen tydligt dilaterad från 30 minuter (Figur 6).

Häst 4 (0,009 mg/kg): Normala pupiller (Figur 6) och pupillreflexer genom hela försöksomgången.

Vid placeboomgångarna sågs inga nedsatta pupillreflexer eller dilaterade pupiller.



Figur 6. Vertikal pupilldiameter angivet som ett mått på pupillens storlek i förhållande till avståndet mellan limbus till limbus, hos Häst 3 och Häst 4.

DISKUSSION

Resultaten från den experimentella delen avseende fyra hästar och totalt nio försöksomgångar visar på att atropin i given dos (0,009 mg/kg) genom en konstantinfusion under 30 minuter, ger systemisk påverkan och en övergående hämmande effekt på tarmmotiliteten. Endast en av hästarna i studien utvecklade tydliga tecken på kolik, även om de andra hästarna under en kort period direkt efter infusionen också upplevdes något dämpade och slutade äta. Noterades att Häst 1 som utvecklade lindriga koliksymptom blev mer rörlig i boxen, skrapade med framben och tittade sig mot buken men fortsatte ändå att äta. De andra hästarna som påverkades av atropininfusionen blev introverta, mindre rörliga i boxen och slutade äta.

Dos-respons förhållande avseende atropin och tarmmotilitet

Dos-respons förhållandet mellan atropin och nedsatt tarmmotilitet är i tidigare studier inte fullständigt klarlagt. Atropin administreras topikalt vid ögonskador i form av ögondroppar 1% lösning, där 0,1 ml motsvarar 1 mg atropin. Rekommenderad dosregim vid uveit är atropin topikalt i ögat var fjärde till sjätte timme tills pupillen har dilaterat (Brooks, 2002; Gilger, 2005). Vid topikal administrering genom ögonkateter är 0,2 ml (2 mg) en vanlig dos vid varje behandlingstillfälle. Vid administrering av topikala ögondroppar beror droppstorleken på droppflaskans utformning och handhavandet av flaskan (Van Santvliet & Ludwig, 2004: se Gelatt, 2013). Droppstorleken varierar inom intervallet 25–70 μ L vilket motsvarar en mängd 0,025–0,07 mg atropin. Johansson (2016) har i ett examensarbete fastställt halveringstiden för atropin till 59 minuter efter topikal administrering i ögat och 45,5 minuter efter intravenös administrering.

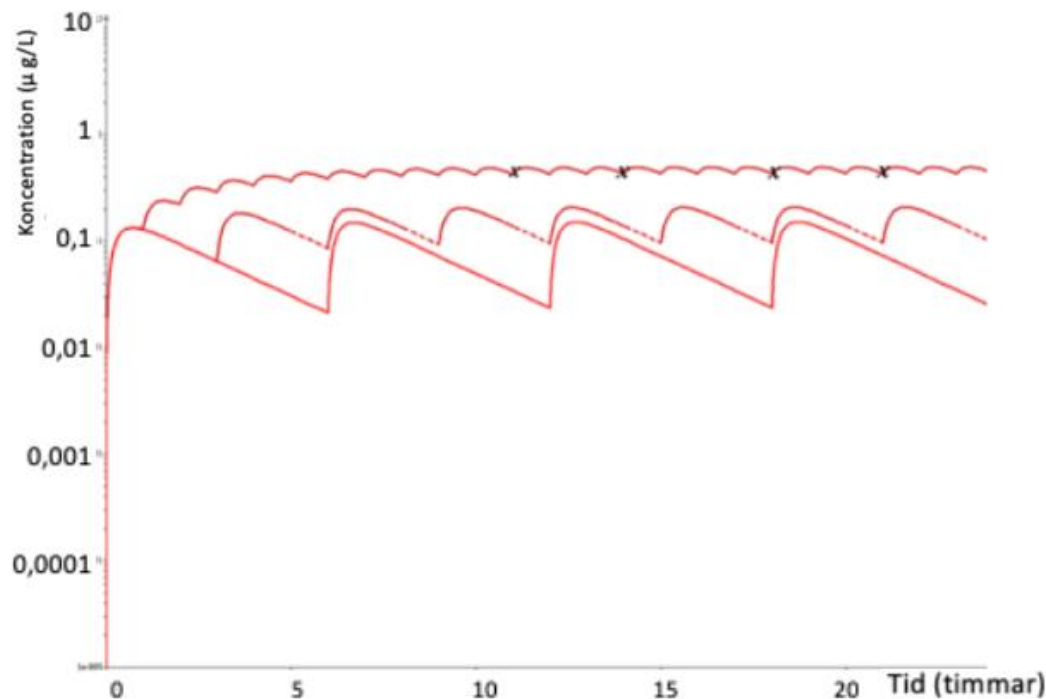
Ett läkemedels ackumulering i blodet påverkas av halveringstiden och doseringsregim (Toutain, 2004). En farmakologisk grundregel är att administrering av läkemedel med kortare intervall än tre (till fem) halveringstider ger en ackumulering av läkemedlet till dess steady state etablerats. Atropin borde således ackumuleras i blodet vid administrering intravenöst mer

frekvent än var annan till var fjärde timme (2,2–3,8 timmar) respektive var tredje till femte timme vid topikal administrering i ögat. Medelkoncentrationen vid steady state är kvoten av doshastigheten dividerat med clearance (Gabrielsson & Weiner, 2016) vilket medför att kortare dosintervall producerar högre medelkoncentration.

Williams *et al.*, (2000) administrerade hästar med 1 mg atropin topikalt i ett öga varje timme under 24 timmar. Alla sex hästar i studien drabbades av frånvaro av auskulterbare tarmljud under perioden 2–18 timmar efter administrering. Fyra hästar drabbades av kolik i lindrigare form efter 11, 14, 18 och 21 timmar, markerat med x i Figur 7. Dalin (2014) administrerade atropin topikalt var tredje timme och kunde se signifikant nedsatta tarmljud jämfört med placebogrupperna men ingen häst utvecklade symptom på kolik. Domberg (2014) och Wehrman *et al.*, (2017) administrerade atropin topikalt var sjätte timme och studierna överensstämmer med varandra då ingen häst uppvisade nedsatta tarmljud eller koliksymptom.

Simulering av plasmakoncentrationerna (Figur 7 och 8) föreslår att hästarna inkluderade i studien utförd av Williams *et al.* (2000) drabbades av kolik efter mer än 10 timmars exponering av atropin i plasmakoncentrationer runt 0,3–0,4 µg/L. Dalin (2014) visade på nedsatt tarmmotilitet där simulerade plasmakoncentrationerna pendlade mellan C_{min} 0,08–0,09 µg/L och C_{max} 0,1–0,2 µg/L. Domberg (2014) rapporterade inga effekter på tarmmotilitet med liknande simulerat C_{max} (0,1–0,2 µg/L) men C_{min} uppskattades till 0,02 µg/L vilket var lägre än Dalin (2014). I den nu aktuella studien noterades kortvarig inappetens och nedstämdhet hos tre hästar, samt en häst med lindriga koliksymptom efter mer än tio gånger högre uppskattad exponering. Dock efter en 30 minuter lång singeladministrering. Beaktat en halveringstid på cirka 45 minuter faller plasmakoncentrationen till sannolikt irrelevanta koncentrationer inom loppet av några timmar (Johansson, 2016).

Baserat på den aktuella och ovan nämnda studier, är det rimligt att anta att finns ett tröskelvärde vid 0,02–0,2 µg/L, där tarmmotiliteten hämmas av atropin. Hästarna i studien av Williams *et al.* (2000) låg sannolikt konstant över tröskelvärdet och fyra av sex hästar utvecklade kolik. Koliksymptomen uppträdde efter 11–18 timmar, vilket beror på att de typiska symptomen på kolik troligtvis uppstår när nedsatt tarmmotorik har medfört att gas eller ingesta har ansamlats i tarm då distension av tarmsegment i sig är smärtsamt. Anledningen till att hästarna i studien av Dalin (2014) inte utvecklade kolik skulle kunna förklaras med att plasmakoncentrationerna hann sjunka under tröskelvärdet och tarmmotoriken kom igång mellan administreringarna. Hade exponeringen i den här studien haft längre duration är det rimligt att anta att flera hästar hade fått kolik. Att inappetensen och nedstämdheten var kortvarig och inträder efter att infusionen avslutades, tyder på att hästar klarar kortare perioder av plasmakoncentrationer över 1 µg/L.

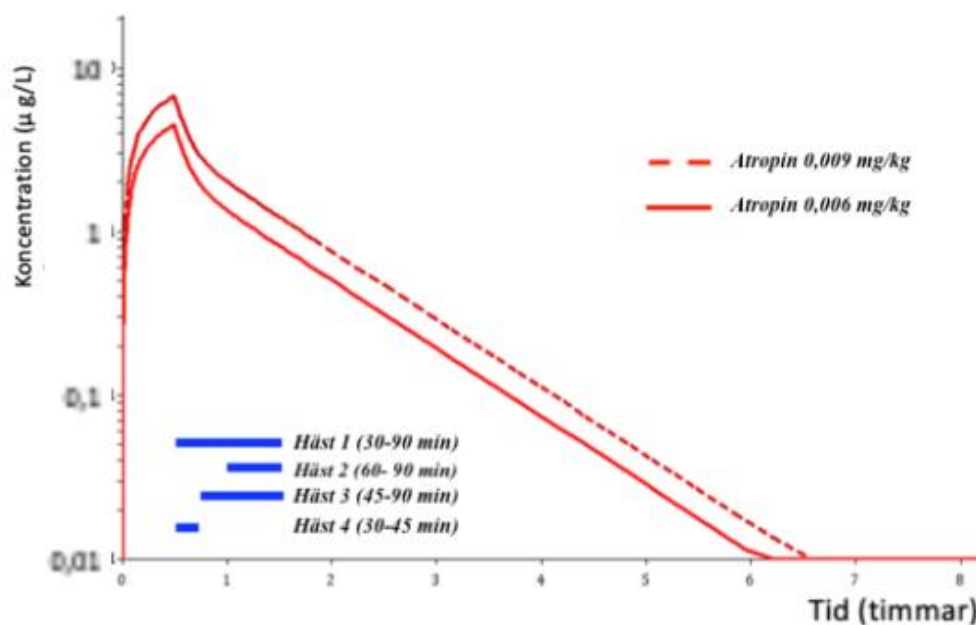


Figur 7. Koncentrationskurvor efter topikal administrering av atropin.

Översta grafen motsvarar 1 mg varje timme under 24 timmar (Williams et al., 2000).

Mellersta grafen (streckad) motsvarar 1 mg var tredje timme under 24 timmar (Dalin, 2014)

Nedersta grafen motsvarar 1 mg var sjätte timme under 24 timmar (Domberg, 2014; Wehrman et al., 2017). x markerar fall av kolik.



Figur 8. Simulerade plasmakoncentrationer efter intravenös infusion under 30 min.

Markering i figuren visar vid vilka tidsintervall Häst 1–4 slutade äta och visade dämpat allmäntillstånd eller visade tecken på kolik (efter administrering av atropin 0,009 mg/kg).

Figur 8 simulerar plasmakoncentrationerna vid doserna 0,006 mg/kg (C_{\max} på cirka 3,5 $\mu\text{g/L}$) och 0,009 mg/kg (C_{\max} cirka 7 $\mu\text{g/L}$) samt visar i vilket intervall hästarna uppvisade inappetens och dämpat beteende. Auskultationerna visar översiktligt på att de minskade tarmljuden framförallt uppstod i intervallet 30–120 minuter efter infusionsstart. De nedsatta tarmljuden uppstod innan hästarna upplevs dämpade men återgick till mer normal variation i samband med att hästarna återfick sin aptit.

Auskultation av tarmmotilitet

Auskultation har använts för att monitorera tarmmotilitet i flertalet publicerade atropinstudier (Dalin, 2014; Domberg, 2014; Johansson, 2016; Ducharme & Fubini, Wehrman *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2000) och är en metod som har visat sig ha hög reproducerbarhet (Ehrhardt & Lowe, 1990). Registrerade data från auskultationerna i den nu aktuella studien visar på en nedsatt tarmmotorik hos flera av hästarna strax efter avslutandet av infusionen med atropin. En viss individuell variation bland hästarna kunde ses avseende vilket tidsintervall tarmmotoriken blev nedsatt och hur länge effekten kvarstod. Något överraskande är att häst 3 har nästan samma funktionspoängsminskning vid atropinbehandling som placebo, dock inträffar de nedsatta tarmljuden vid olika tidpunkter under de olika försöksdagarna. Den del av de atropinbehandlade hästarna som nådde över det kritiska värdet, c_1 (Figur 3), uppvisade en statistisk signifikant funktionsnedsättning och skattas motsvara 4,5 % av hela populationen hästar. I den aktuella studien har tarmens funktion utvärderats under åtta timmar. Enligt simuleringar (Figur 8) är plasmakoncentrationen av atropin lägre än 0,01 $\mu\text{g/L}$ ca sex timmar efter infusionslut vid dosen 0,009 mg/kg. Skulle utvärderingstiden kortas blir skillnaden mellan behandlings- och placebogruppen tydligare. Även ett större stickprov i studien eller högre administrerad dos skulle ge ett bättre underlag för säkrare skattningar.

Kontraktionsfrekvens i tarm, mätt med ultraljud

Ultraljud är en icke-invasiv diagnostisk metod för att utvärdera organ i bukhålan. Efter behandling med placebo var antalet cecumkontraktioner 0–3,3 per minut vilket överlappar variationen (1,7–16,7) som finns rapporterat i litteraturen (Donnellan *et al.*, 2013; Hendrickson *et al.*, 2007; Koenig *et al.*, 2008; Mitchell *et al.*, 2005; Sasaki *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2015). Avseende höger dorsala colonläge finns det inga jämförbara studier. Den stora variationen i antal kontraktioner per minut uppmätta med ultraljud i olika studier tyder på en svårighet att mäta kontraktionsfrekvens med denna metod. Både Williams *et al.* (2011) samt Koenig *et al.* (2008) belyser svårigheten med att tarmsegment kan flyttas ur bild, vilket innebär att kontraktioner kan missas och att det är svårt att få reproducerbara mätningar. I den nu aktuella studien uppstod svårigheter vid mätning av Häst 2 och Häst 4 som vid de flesta tillfällena under kontrollomgången inte stod still. När Häst 2 blev dämpad och introvert efter atropinadministrering, underlättades mätningarna och fler kontraktioner kan därför ha räknats vid denna tidpunkt jämfört med vid placebo. Häst 4 var en yngre individ som inte hade varit i stallet lika länge som övriga försökshästar och var otålig under försöken och skrapade mycket med frambenen samt reagerade kraftigt på störningar utanför stallet. Erfarenheter från den här aktuella studien indikerar att hästarnas temperament påverkar kvaliteten i datainsamling med ultraljud.

Att skilja mellan olika typer av kontraktioner är inte möjligt med ultraljud (Mitchell *et al.*, 2005). Definitionen av vad som är en kontraktion och hur långa mätperioder som studerats varierar mellan olika studier. Hendrickson *et al.* (2007) graderade tarmmotilitet som mild, moderat och kontinuerlig, där mild definierades som sällsynta rörelser, och kontinuerlig som konstanta rörelser under trettio sekunder. Vad som bedömdes som moderat tarmmotilitet är inte definierat. Williams *et al.* (2011) mätte under en minut, Donnellan *et al.* (2013) i två minuter och Sasaki *et al.* (2008) i tre minuter. Definitionen för kontraktion i studien av Williams *et al.* (2011), var rörelse av tarmvägg och ingesta. Donnellan *et al.* (2013) definierade kontraktioner i cecum som tarmväggens förflyttning på minst två centimeter från bukväggen och höger dorsala colon som aktiv rörelse i tarmväggen. Sasaki *et al.* (2008) definierar inte vad som har räknats som kontraktioner.

I denna studie definierades en kontraktion som en uppenbar minskning av tarmlumen och ingen ny kontraktion räknades förrän tarmen hade återgått till sitt ursprungsläge. Utan objektiva mått blir det en subjektiv bedömning som kan ha påverkats ytterligare av observatörens ovana att arbeta med ultraljud. Sammantaget så bedöms mätningarna med ultraljud i studien som ej tillförlitliga och de överensstämmer ej med data från auskultationer. Förhoppningen är att data som har samlats in med elektointestinoграфи utanför ramen för detta examensarbete skall vara ett mer objektivt mått på tarmens motilitet.

Atropins effekt på hjärtfrekvensen

I försöken var den genomsnittliga hjärtfrekvensen för hästarna behandlade med atropin något högre än densamma för placebogruppen under knappt fyra timmar efter infusionsstart (Figur 5). Den dosberoende effekten av atropin beror inte enbart på muskarinreceptorantagonistens affinitet till receptorn utan även på hur stor involvering parasympatikus har på respektive organsystem (Brunton *et al.*, 2011). Parasympatikus utövar normalt en bromsande effekt på hjärtat och genom att atropin blockerar muskarinreceptorerna utvecklas en mild takykardi. För att hästarna ska få en mer uttalad takykardi krävs ett sympatikuspåslag av till exempel ansträngning eller yttre stimuli (Brunton *et al.*, 2011). Några av hästarna reagerade under försöken på yttre stimuli vilket visade sig genom kraftigt förhöjd hjärtfrekvens under kortare perioder. Utlösande faktorer vid dessa tillfällen var ett insynsskydd som trillade ner från sin plats, en lös häst utanför stallet och plötsliga högtalarljud. Hästarna återfick sin normala puls snart efter att den stressande faktorn var borta.

Atropins effekt på pupillen

Vid topikal behandling av ett öga kan pupilldilatation på båda ögonen visa att plasmakoncentrationerna är så pass höga att risk föreligger för systemeffekter såsom påverkan på tarmmotiliteten. I försöken med administrerat atropin uppvisade två hästar perioder med tydligt nedsatt pupillreflex och dilaterad pupill vilket indikerar att plasmakoncentrationerna av atropin har nått de nivåer där atropin kan diffundera in i ögat och hämma kontraktionen av ciliarmuskulatur och irissfinkter. Häst 1 administrerades en lägre dos (0,006 mg/kg) och monitorerades inte tillräckligt frekvent för att utesluta att ciliarmuskeln inte var påverkad under någon del av försöket. Häst 4 uppvisade inga eller mycket små variationer i pupillstorlek och pupillen svarade på ljusstimulering under båda försöksomgångarna.

Det är väl känt att atropins mydriatiska effekt påverkas av graden pigment i ögat (Salazar, 1976). Atropin bundet till pigment frisätts sedan långsamt under tid vilket medför en förlängd duration av pupilleffekten (Salazar, 1976). Bilderna nedan visar att häst 4 har en högre pigmentering i ögat jämfört med häst 3. Skillnaden i pigmentering förklarar dock troligen inte den uteblivna effekten, utan tyder snarare på att plasmakoncentrationerna i blodet hos Häst 4 inte blev tillräckligt höga för att driva diffusionen av atropin in i ögat. Häst 3 hade en långvarig och uttalad pupildilatation även när plasmakoncentrationerna av atropin bör ha avtagit till låga eller obefintliga nivåer, vilket tyder på att atropin har bundit till pigment i ögat och därefter frisätts långsamt lokalt och därigenom påverkat muskarinreceptorerna i iris och ciliarkropp.



Figur 9a. Häst 3 ögonfärg.



Figur 9b. Häst 4 ögonfärg.

Vilka faktorer kan vara bakomliggande vid utvecklande av kolik?

Två amerikanska retrospektiva studier med okontrollerat urval har undersökt incidensen av kolik hos hästar inskrivna för oftalmologiska problem. Scherrer *et al.* (2016) visar på högre frekvens av kolik hos hästar med oftalmologiska problem (8 %) än hästar med ortopediska problem (5 %) medan Patipa *et al.* (2012) visar på en betydligt högre incidens av kolik bland de oftalmologiska patienterna (21,4 %). Ingen av studierna rapporterar ett tydligt signifikant samband mellan atropinbehandling och ökad kolikrisk.

Då studierna inte är randomiserade och förlitar sig på patientunderlaget vid de två hästklinikerna är det svårt att dra slutsatser om orsakssamband för utvecklande av kolik. Patipa *et al.* (2012) pekar på samband mellan kolik och antalet dagar hästarna var inskrivna samt hästarnas ålder. Författarna uttrycker att kolik hos dessa hästar skulle kunna orsakas av att allvarliga skador kräver lång vistelsetid med intensiv medicinering, eller det faktum att hästarna som är inskrivna under längre tid är exponerade för risk under fler dagar och kan då observeras med koliksymptom. Förändrade skötselrutiner framhålls även som en riskfaktor. Topikal behandling med atropin var inte signifikant korrelerat till kolik efter att hänsyn hade tagits till hästarnas ålder och inskrivningstid på kliniken ($P=0,52$), vilken dos atropin hästarna har behandlats med är inte redovisat. Scherrer *et al.* (2016) rapporterade ett signifikant samband mellan den totala dagliga dosen *non-steroidal antiinflammatory drug* (NSAID) och risken för kolik. Dessa data skulle kunna tyda på att hästar som behöver en högre daglig dos NSAID lider av mer smärta, eller att den höga doseringen innebär att de utvecklar gastrointestinala ulcera med kolik som följd. Smärta och stress är faktorer som påverkar tarmmotoriken negativt genom

att sympatiska nervsystemet frisätter noradrenalin hämmar frisättningen av acetylkolin (Sjaastad *et al.*, 2004; Brunton *et al.*, 2011). Även magsår är i litteraturen nämnd som en potentiellt bakomliggande orsak till ileus och kolik och är en känd komplikation till NSAID-behandling hos häst (Smith, 2014, Rang & Dale, 2011). Scherrer *et al.* (2016) rapporterade ingen signifikant korrelation mellan atropinbehandling och kolik ($P= 0,97$), värt att notera är att hästarna som ingick i studien behandlades som mest två gånger dagligen med atropin och ligger således lågt avseende plasmakoncentrationer.

Williams *et al.* (2011) har studerat tarmmotiliteten hos hästar som gick på bete jämfört med hästar som stod uppstallade med endast lätt motion. Slutsatserna var att grovtarmens motilitet, framför allt i flexura pelvina, var signifikant lägre hos de uppstallade hästarna jämfört med hästar som gick på bete dygnet runt. Williams *et al.* (2011) lyfter flera tänkbara riskfaktorer som att förändrade foderstater, minskad ättid, minskat vätskeintag och ökad andel av kraftfoder kan vara bidragande till utvecklandet av kolik vid uppställning. Williams *et al.* (2015) beskrev en signifikant skillnad i hästarnas vattenintag där uppstallade hästar drack nästan tre gånger så mycket per dygn som hästar på bete. Även distansen som hästarna på betet förflyttade sig var betydligt längre än hästar uppstallade på box med kontrollerad motion under 30–40 minuter per dag. I en prospektiv fall-kontrollstudie identifierades foderbyten och minskad utevistelse som riskfaktorer för att utveckla kolik (Hudson *et al.*, 2001). Resultaten rapporterade i studierna av Williams *et al.* (2011) samt Hudson *et al.* (2001) överensstämmer med slutsatser dragna av Cohen *et al.* (1999) där foderbyten och förändrade uppställningsrutiner identifieras som riskfaktorer för att utveckla kolik. Fastande hästar har även färre tarmkontraktioner per minut jämfört med utfodrade hästar (Hendrickson *et al.*, 2007, Williams *et al.*, 2011).

KONKLUSION

Atropin har en dosberoende, hämmande effekt på tarmmotilitet men är även en viktig del i behandlingen av oftalmologiska patienter med uveit. Genom atropins cykloplegiska effekt, upphävs den mycket smärtsamma spasmen i ciliarmuskeln och ger därmed viktig smärtlindring för patienten. Stress och smärta har i sig en negativ effekt på tarmmotilitet genom att det sympatiska nervsystemet stimuleras och frisätter noradrenalin. Hästar inskrivna på klinik för oftalmologiska problem står också ofta uppstallade under längre perioder där förändrade skötselrutiner, foderbyten, stress och smärta är vanligt förekommande faktorer. För att minska risken för kolik hos oftalmologiska patienter bör dessa därför hållas adekvat smärtlindrade, motioneras regelbundet och i möjligaste mån inte utsättas för stress, förändrade skötselrutiner eller plötsliga foderbyten. Atropin bör därför vara en del i behandlingen av uveit för att minska smärtan i ögat likväl som att minska risken för synekier, men det är samtidigt viktigt att tillämpa en säker dosregim för att få maximal smärtlindring utan risk för påverkan på tarmmotiliteten. Med stöd i simuleringar ovan och det faktum att ingen häst i den aktuella studien utvecklade långvariga koliksymptom, bör rekommenderad behandlingsregim med atropin topiskt var fjärde till sjätte timme tills pupillen har dilaterat vara en behandling förknippat med låg till minimal risk för kolik förutsatt att hästarna motioneras regelbundet. I studien upplevdes auskultation vara en känsligare metod än transkutant ultraljud för att diagnosticera funktionsminskning i tarm efter atropinbehandling.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Atropins effekt på tarm

Ögonskador hos häst är ofta smärtsamma och kräver snabbt insättande behandling för bästa möjliga resultat. Ögondroppar med atropin är en vanlig del i behandlingen för att vidga hästens pupill och minska risken för kroniska sammanväxningar i ögat. Det är sedan länge känt att atropin i höga doser kan orsaka kolik hos häst genom att tarmens motorik minskar. När tarmmotoriken avtar kan förstoppningar bildas eller gas ansamlas vilket leder till buksmärta. För att utforma säkra behandlingsprotokoll är det viktigt att kartlägga vid vilka doser atropin som har en negativ effekt på tarmen men även belysa vilka andra faktorer som kan vara delaktiga i utvecklandet av kolik.

Atropin är naturligt förekommande i vissa växter och har använts inom läkekonsten sedan antikens Grekland. Genom att binda till receptorer utövar atropin effekt på flera olika organsystem och funktioner i kroppen däribland öga, tarm och hjärta. I denna studie har atropin tillförts intravenöst och hästarnas tarmljud har utvärderats med auskultation. Auskultation är en enkel diagnostisk metod där veterinären lyssnar på buken med stetoskop. Vetenskapliga studier har visat på en hög överensstämmelse när samma veterinär bedömer inspelade ljud vid flera tillfällen och metoden används dagligen av veterinärer i klinisk verksamhet för att gradera tarmfunktion hos häst.

Tidigare forskning avseende atropins effekt på tarm visade att administrering av 1 mg atropin i ögat varje timme gav nedsatt tarmmotorik redan efter två timmar och kolik hos flera hästar. I svenska studier har nedsatt tarmmotorik noterats hos hästar som behandlats med atropin i samma dos i ögat var tredje timme men ej vid behandling var sjätte timme. Ingen av de svenska hästarna utvecklade kolik. Flera studier har gjorts på intravenös tillförsel av atropin och visat på nedsatt tarmmotorik och kolik. I denna studie administrerades atropin intravenöst i lägre doser än tidigare. Resultaten visar att tarmmotoriken hämmas vid dessa doser men effekten är låg. Uppskattningsvis ger dosen (0,009 mg/kg) nedsatta tarmljud hos 4,5% av hela populationen hästar. En av de fyra hästarna i studien visade lindriga tecken på kolik medan de övriga tre endast upplevdes som dämpade och slutade äta under en period efter att de hade administrerats atropin.

Hästars tarmmotorik är ett komplext samspel av tarmväggen, nervsystemet och innehållet i tarmen. När tarmens framtådrivande kontraktioner avtar uppstår så kallad ileus. Symptomen vid ileus är nedsatt allmäntillstånd, tecken på buksmärta, nedsatta tarmljud och minskad mängd avföring. Inflammation, magsår eller förstoppning kan vara bakomliggande orsaker till ileus men även en obalans mellan kroppens två, ej viljestyrda nervsystem, kan vara en underliggande orsak. Förenklat kan det sägas att det parasympatiska nervsystemet aktiveras när kroppen är i vila och underlättar matsmältning medan det sympatiska nervsystemet aktiveras vid stress eller ansträngning och förbereder kroppen för flykt och kamp. Atropin konkurrerar ut den parasympatiska signalsubstansen acetylcholin och minskar på så sätt tarmens kontraktioner. Vid stress och smärta frisätter sympatikus signalsubstansen noradrenalin som minskar mängden fritt acetylcholin, vilket i sin tur innebär att även sympatiska nervsystemet minskar aktiviteten i tarm.

Inaktivitet och fasta är andra faktorer som har visat sig vara negativa för tarmens motorik. Även foderbyten och stora mängder kraftfoder har noterats som tänkbara riskfaktorer för att utveckla kolik. Två amerikanska forskargrupper har i studier visat att hästar som vårdas på klinik för ögonskador eller ögonsjukdomar löper högre risk att drabbas av kolik än hästar som vårdas för andra problem. För att minska risken att hästar som behandlas med atropin ska drabbas av kolik är det viktigt att beakta faktorer som inaktivitet, foderbyten och smärta. Atropins har en hämmande effekt på tarm vid frekvent administrering men den smärtlindrande effekten i ögat är minst lika viktig för att förhindra att tarmens motorik stannar av på grund av smärta. Genom att inte behandla hästarna med atropin oftare än nödvändigt för att dilatera pupillen, motionera dem regelbundet och tillse att de är ordentligt smärtlindrade kan man minska risken för att de ska drabbas av kolik.

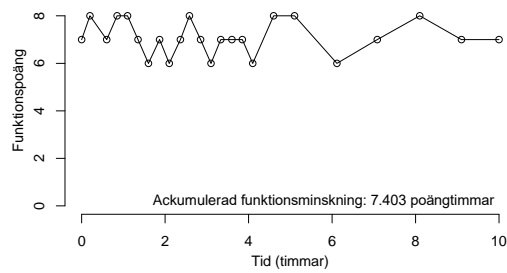
REFERENSER

- Adams, S. B., Lamar, C. H. & Jerome, M. (1984) Motility of the distal portion of the jejunum and pelvic flexure in ponies; Effect of six drugs. *American Journal of Veterinary Research*, 45, 795-799.
- Auer, J. A. & Stick, J. A. (2012) *Equine surgery*, 4. ed. p. 420. St. Louis, Mo.: Elsevier.
- Beatson, N. (1982) Atropine and paralytic ileus. *Postgraduate Medical Journal*, 58(681), 451.
- Berdai, M. A., Labib, S., Chetouani, K. & Harandou, M. (2012) Atropa belladonna intoxication: a case report. *The Pan African Medical Journal*, 11, 72.
- Blikslager, A. T., Bowman, K. F., Levine, J. F., Bristol, D. G. & Roberts, M. C. (1994) Evaluation of factors associated with postoperative ileum in horses: 31 cases. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 205(12), 1748-1752.
- Brooks, D. E. (2002) *Equine ophthalmology: for the equine practitioner*. p. 72. Jackson, Wyo.: Teton New Media.
- Brunton, L. L., Chabner, B. A. & Knollman, B. C. (2011) *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 12. ed. New York: McGraw-Hill.
- Chiocchetti, R., Bombardi, C., Mongardi-Fantaguzzi, C., Venturelli, E., Russo, D., Spadari, A., Montoneri, C., Romagnoli, N. & Grandis, A. (2009) Intrinsic innervation of the horse ileum. *Research in Veterinary Science*, 87(2), 177-185.
- Clegg, J. G. (1936) Atropine poisoning. *The British Medical Journal*, 1(3920), 387-387.
- Cohen, N. D., Gibbs, P. G. & Woods, A. M. (1999) Dietary and other management factors associated with colic in horses. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 215.
- Dalin, F. (2014) *Utvärdering av gastrointestinala effekter och koliksymptom vid ögonbehandling med höga doser atropin hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2014:15)
- Doherty, T. J. (2009) Postoperative ileus: pathogenesis and treatment. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25(2), 351-362.
- Domberg, M. (2014) *Utvärdering av gastrointestinala effekter och koliksymptom vid ögonbehandling med atropin i låg dos hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2014:13)
- Donnellan, C. M., Page, P. C., Nurton, J. P., van den Berg, J. S. & Guthrie, A. J. (2013) Comparison of glycopyrrolate and atropine in ameliorating the adverse effects of imidocarb dipropionate in horses. *Equine Veterinary Journal*, 45(5), 625-9.
- Ducharme, N. G. & Fubini, S. L. (1983) Gastrointestinal complications associated with the use of atropine in horses. *The American Veterinary Medical Association Journal*, 182, 229-231.
- Dyce, K. M., Sack, W. O. & Wensing, C. J. G. (2010) *Textbook of veterinary anatomy*, 4. ed. p. 557. St. Louis, MO: Saunders Elsevier.
- Ehlert, F. J., Ostrom, R. S. & Sawyer, G. W. (1997) Subtypes of the muscarinic receptor in smooth muscle. *Life Sciences*, 61(18), 1729-1740.
- Ehrhardt, E. E. & Lowe, J. E. (1990) Observer variation in equine abdominal auscultation. *Equine Veterinary Journal*, 22(3), 182-185.
- Gabrielsson, J. & Weiner, D. (2016) *Pharmacokinetic & pharmacodynamic data analysis*. 5.ed. Stockholm: Apotekarsocieteten (Swedish Academy of Pharmaceutical Sciences).
- Gelatt, K. N., Gilger, B. C. and Kern, T. J. (2013) *Veterinary ophthalmology*. 5. ed. 355. Ames, Iowa: John Wiley & Sons.
- Gilger, B. C. (2005) *Equine ophthalmology*. p. 265. Elsevier Saunders.

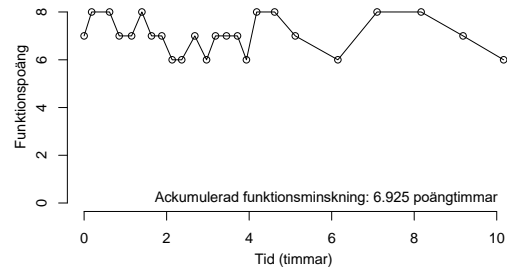
- Guyton, A. C. (2000) *Textbook of medical physiology*, 10. ed. pp. 718-727. Philadelphia: Saunders.
- Hendrickson, E. H. S., Malone, E. D. & Sage, A. M. (2007) Identification of normal parameters for ultrasonographic examination of the equine large colon and cecum. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 48(3), 289.
- Hollman, A. (1991) Atropine. *British Heart Journal*, 66(5), 367.
- Hudson, J. M., Cohen, N. D., Gibbs, P. G. & Thompson, J. A. (2001) Feeding practices associated with colic in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(10), 1419.
- Johansson, C. (2016) *Biotillgänglighet av atropin vid topikal ögonbehandling hos häst och metoder för objektiv mätning av tarmsmotilitet*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2016:6)
- Koenig, J. & Cote, N. (2006) Equine gastrointestinal motility - ileus and pharmacological modification. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 47(6), 551-559.
- Koenig, J. B., Martin, C. E. W., Nykamp, S. G. & Mintchev, M. P. (2008) Use of multichannel electrointestinalography for noninvasive assessment of myoelectrical activity in the cecum and large colon of horses. *American Journal of Veterinary Research*, 69(6), 709-715.
- Lester, G. D., Bolton, J. R., Cullen, L. K. & Thurgate, S. M. (1992) Effects of general anesthesia on myoelectric activity of the intestine in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1553-1557.
- Läkemedelsindustriföreningen (2015) *FASS Djurläkemedel- Spasmius vet*, 2015. Available online: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20140711000327&docType=14&scrollPosition=678> [2018-11-04].
- Läkemedelsindustriföreningen (2018) *FASS Buscopan*, 2018. Available online: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=0&nplId=19540628000030&docType=6&scrollPosition=656> [2018-11-04].
- Macfarlane, N. G. (2018) Gut motility and its control. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 19(3), 133-135.
- Malone, E. D., Brown, D. R., Trent, A. M. & Turner, T. A. (1996) Influence of adrenergic and cholinergic mediators on the equine jejunum in vitro. *American Journal of Veterinary Research*, 57, 884-890.
- Malone, E. D., Kannan, M. S., Brown, D. R., Turner, T. A. & Trent, A. M. (1999) Adrenergic, cholinergic and nonadrenergic noncholinergic intrinsic innervation of the jejunum in horse. *American Journal of Veterinary Research*, 60, 898-904.
- Michel, A. D. & Whiting, R. L. (1987) Direct binding studies on ileal and cardiac muscarinic receptors. *British Journal of Pharmacology*, 92(4), 755-767.
- Mitchell, C. F., Malone, E. D., Sage, A. M. & Niksich, K. (2005) Evaluation of gastrointestinal activity patterns in healthy horses using B mode and Doppler ultrasonography. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 46(2), 134-140.
- Nathanson, N. M. (2012) *Muscarinic receptors (Handbook of experimental pharmacology)*, Berlin Heidelberg: Springer.
- Navarre, C. B. & Roussel, A. J. (1996) Gastrointestinal motility and disease in large animals. *Journal of Veterinary Intestinal Medicine*, 10(2), 51-59.
- Norlén, P. (2004) *Basal farmakologi*, 1. ed. pp. 74-75. Stockholm: Liber.
- Orsini, J. A. & Divers, T. J. (2014) *Equine emergencies: treatment and procedures*, 4. ed. pp. 739, 741. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders.

- Patipa, L. A., Sherlock, C. E., Witte, S. H., Pirie, G. D., Berghaus, R. D. & Peroni, J. F. (2012) Risk factors for colic in equids hospitalized for ocular disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(12), 1488.
- Plumb, D. C. (2011) *Plumb's veterinary drug handbook*, 7. ed. pp. 94-96, 517-518. Ames Iowa: Wiley Blackwell.
- Rang, H. P. & Dale, M. M. (2011) *Rang and Dale's pharmacology*, 7. ed. pp. 153,159. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Roberts, M. C. & Argenzio, A. (1986) Effects of amitraz, several opiate derivatives and anticholinergic agents on intestinal transit in ponies. *Equine Veterinary Journal*, 18(4), 256-260.
- Ross, M. W., Donawick, W. J., Sellers, A. F. & Lowe, J. E. (1986) Normal motility of the cecum and right ventral colon in ponies. *American Journal of Veterinary Research*, 47, 1756-1762.
- Roussel, A. J., Cohen, N. D., Hooper, R. N. & Rakestraw, P. C. (2001) Risk factors associated with development of postoperative ileus in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(1), 72.
- Salazar, M., Shimada, K. & Patil, P. N. (1976) Iris pigmentation and atropine mydriasis. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 197(1), 79.
- Sasaki, N., Murata, A., Lee, I. & Yamada, H. (2008) Evaluation of equine cecal motility by auscultation, ultrasonography and electrointestinography after jejunocecostomy. *Research in Veterinary Science*, 84(2), 305-310.
- Scherrer, N. M., Lassaline, M., Richardson, D. W. & Stefanovski, D. (2016) Interval prevalence of and factors associated with colic in horses hospitalized for ocular or orthopedic disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 249(1), 90.
- Schusser, G. F. & White, N. A. (1997) Morphologic and quantitative evaluation of the myenteric plexuses and neurons in the large colon of horses. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 210, 928-934.
- Shutt, L. E. & Bowes, J. B. (1979) Atropine and hyoscine. *Anaesthesia*, 34(5), 476-490.
- Sjaastad, Ø. V., Hove, K. & Sand, O. (2004) [2003] *Physiology of domestic animals*, 2. ed. pp. 494-497, 545-546, 557, 559, 560. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Smith, B. P. (2014) *Large animal internal medicine*, 5. ed. pp. 728- 732. St. Louis, MO: Mosby Elsevier.
- Van Weyenberg, S., Sales, J. & Janssens, G. P. J. (2006) Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Science*, 99(1), 3–12.
- Wehrman, R. F., Gemensky-Metzler, A. J., Zibura, A. E., Nyhart, A. B. & Chandler, H. L. (2017) Objective evaluation of the systemic effects of topical application of 1% atropine sulfate ophthalmic solution in healthy horses. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 251(11), 1324-1330.
- Williams, M. M., Spiess, B. M., Pascoe, P. J. & O'Grady, M. (2000) Systemic effects of topical and subconjunctival ophthalmic atropine in the horse. *Veterinary Ophthalmology*, 3(2-3), 193-199.
- Williams, S., Horner, J., Orton, E., Green, M., McMullen, S., Mobasher, A. & Freeman, S. L. (2015) Water intake, faecal output and intestinal motility in horses moved from pasture to a stabled management regime with controlled exercise. *Equine Veterinary Journal*, 47(1), 96-100.
- Williams, S., Tucker, C. A., Green, M. J. & Freeman, S. L. (2011) Investigation of the effect of pasture and stable management on large intestinal motility in the horse, measured using transcutaneous ultrasonography. *Equine Veterinary Journal*, 43(39), 93-97.
- Zachary, J. F. & McGavin, M. D. (2011) *Pathologic basis of veterinary disease*, 5. ed. pp. 355, 364, 863. St. Louis, Mo.: Elsevier.

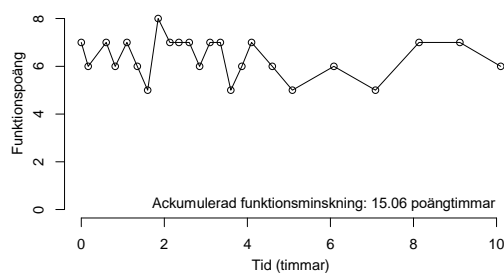
Bilaga 1. Ackumulerad funktionsminskning under åtta timmar vid auskultation av bukens fyra kvadranter.



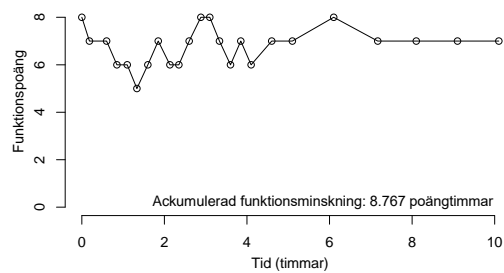
Häst 1, placebo



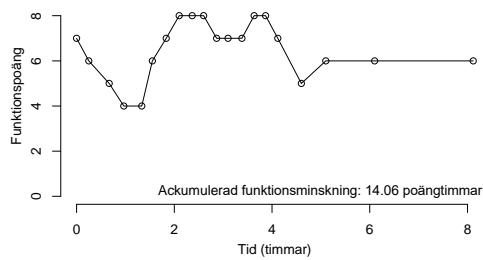
Häst 2, placebo



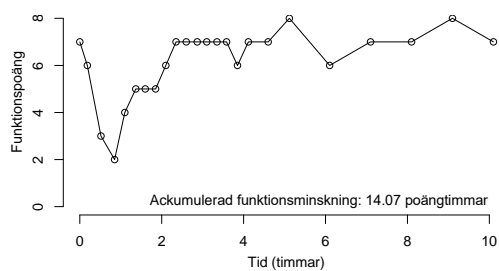
Häst 3, placebo



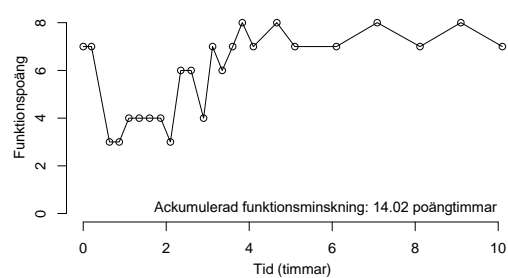
Häst 4, placebo



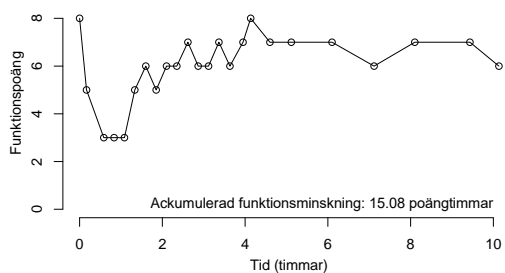
Häst 1, atropin 0,006 mg/kg



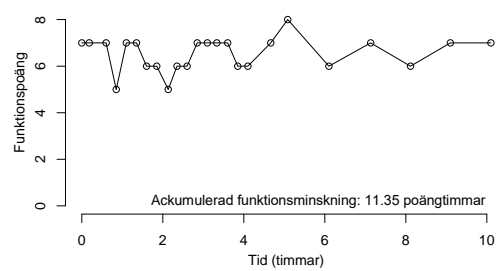
Häst 1, atropin 0,009 mg/kg



Häst 2, atropin 0,009 mg/kg



Häst 3, atropin 0,009 mg/kg

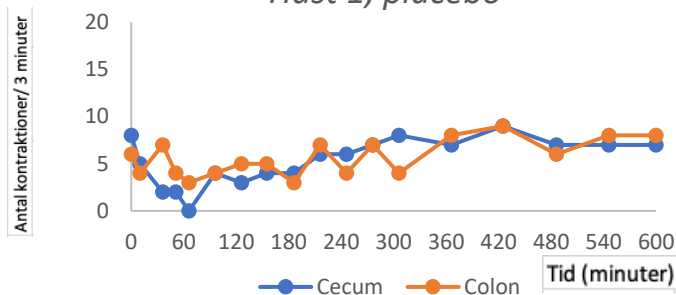


Häst 4, atropin 0,009 mg/kg

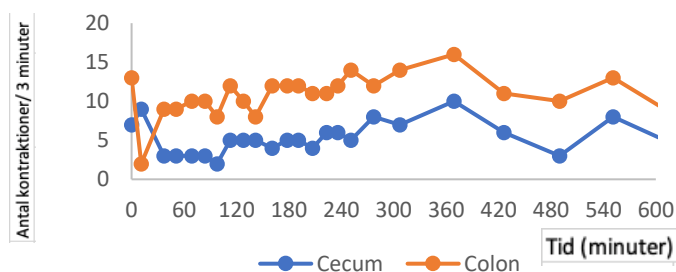
Bilaga 2. Transkutant ultraljud. Antal kontraktioner per 3 minuter i cecum och höger dorsala colon.

Placebo:

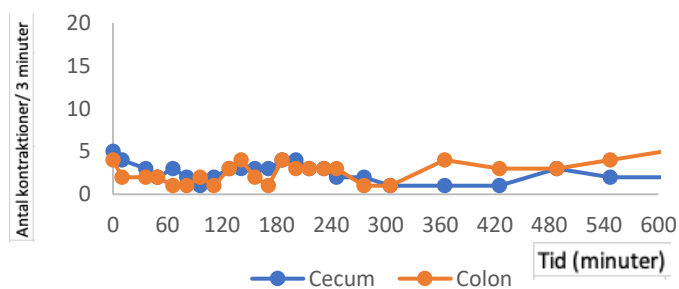
Häst 1, placebo



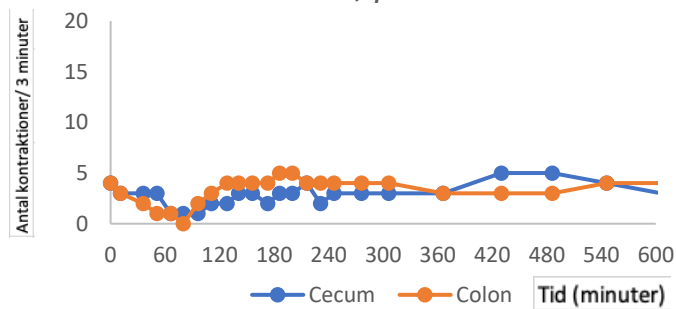
Häst 2, placebo



Häst 3, placebo

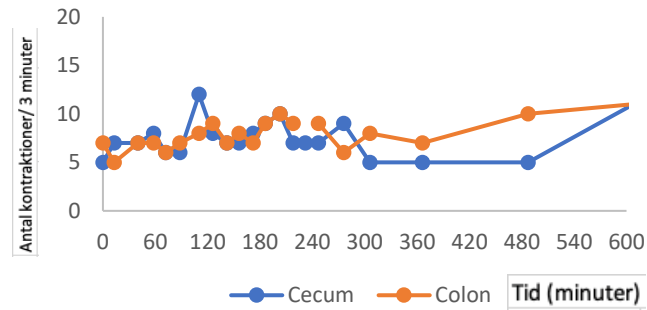


Häst 4, placebo



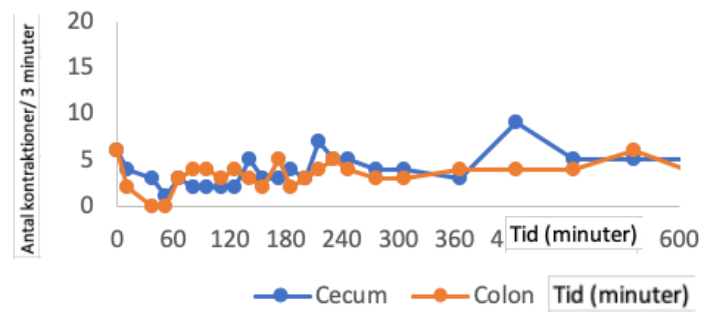
Atropin 0,006mg/kg:

Häst 1, atropin 0,006 mg/kg

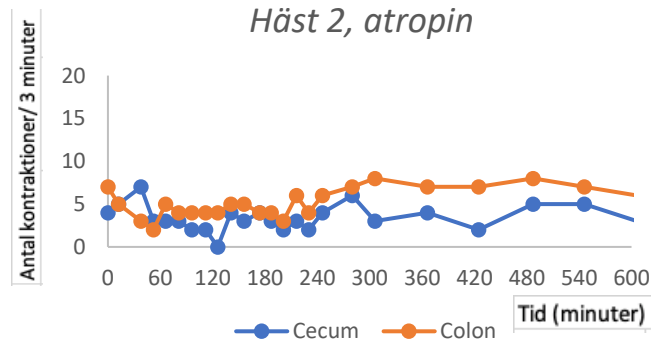


Atropin 0,009mg/kg:

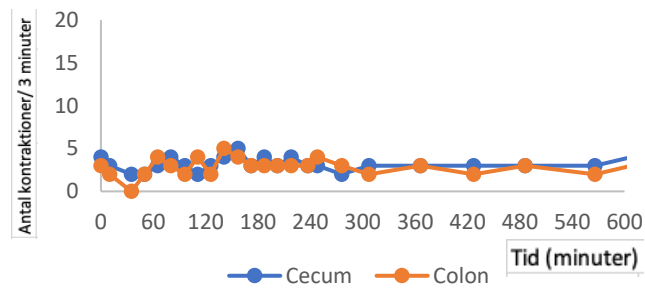
Häst 1, atropin 0,009 mg/kg



Häst 2, atropin



Häst 3, atropin



Häst 4, atropin

